

**PATHOGENETISCHE MODELLE
ZUR TESTUNG ANTIVIRALER SUBSTANZEN
IN DER WEISSEN MAUS**

Marieluise Schmeller

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551911_0031

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions-
und Seuchenmedizin des Fachbereiches Tiermedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität München

VORSTAND: Professor Dr. Dr. h. c. A. MAYR

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau Dozentin Dr. B. Bibrack

PATHOGENETISCHE MODELLE ZUR TESTUNG ANTIVI-
RALER SUBSTANZEN IN DER WEISSEN MAUS.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereiches Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Marieluise Schmeller

aus

Eggenfelden

München 1975

**Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München**

Dekan: Prof. Dr. B. VOLLMERHAUS
Referent: Priv.-Doz. Dr. B. BIBRACK
Korreferent: Prof. Dr. I. GYLSTORFF

Tag der Promotion: 18. Juli 1975



GLIEDERUNG

1.	<u>Einleitung</u>	1
2.	<u>Literatur</u>	3
2.1.	<u>Einführung</u>	3
2.2.	<u>Zyklische Virusallgemeinerkrankungen</u>	5
2.2.1.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation im Zentralnervensystem	7
2.2.2.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation im Respirationstrakt	8
2.2.3.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation im Digestionstrakt	9
2.2.4.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation im Urogenitaltrakt	10
2.2.5.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation in der Haut	10
2.2.6.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation im Gefäßsystem	11
2.2.7.	Zyklische Virusallgemeinerkrankungen mit Manifestation im Immunsystem	13
2.3.	<u>Infektionsmodelle in der weissen Maus zur Testung antiviraler Substanzen</u>	14
2.3.1.	Infektionsmodelle mit Manifestation im Zentralnervensystem	15
2.3.2.	Infektionsmodelle mit Manifestation im Respirationstrakt	24
2.3.3.	Infektionsmodelle mit Manifestation in der Haut	29
2.4.	<u>Auswertungsmöglichkeiten bei der Testung anti- viraler Substanzen im Infektionsversuch</u>	32
2.4.1.	Bewertungskriterien	32
2.4.2.	Statistische Auswertung	37
2.4.3.	Versuchsaufbau	42

3.	<u>Eigene Untersuchungen</u>	44
3.1.	<u>Material und Methoden</u>	44
3.1.1.	Versuchstiere	44
3.1.2.	Virusmaterial	44
3.1.3.	Testsubstanzen	45
3.1.4.	Methodik der Infektionsmodelle	46
3.2.	<u>Ergebnisse</u>	48
3.2.1.	Ausarbeitung der Infektionsmodelle	48
3.2.2.	Prüfung der Wirksamkeit von Testpräparaten unter Verwendung der ausgearbeiteten Infektionsmodelle	54
4.	<u>Besprechung der Ergebnisse</u>	66
5.	<u>Zusammenfassung</u>	71
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	73

1. EINLEITUNG

Der zunehmende Trend, Tierversuche durch "in vitro"-Methoden zu ersetzen, ist nicht nur aus tierschützereischen Gründen sehr zu begrüßen. Trotzdem gibt es immer noch Forschungsgebiete in der Medizin, bei denen man auf das Versuchstier nicht verzichten kann. Hierher gehört auch die Prüfung der Wirksamkeit und Unschädlichkeit von Medikamenten wie zum Beispiel von antiviralen Präparaten.

Da eine Vermehrung von Viren nur in lebenden Zellen möglich ist, stehen für die Testung von antiviralen Substanzen grundsätzlich 3 Biosysteme zur Verfügung: die Zellkultur, der Hühnerembryo und das Versuchstier. Leider lassen sich die in Zellkultur und Hühnerembryo gewonnenen Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse im Warmblüterorganismus übertragen, so dass letzten Endes immer wieder auf den Tierversuch zurückgegriffen werden muß.

Das am häufigsten bei der Prüfung antiviraler Substanzen verwendete Versuchstier ist die weisse Maus. Die Gründe hierfür sind vielgestaltig. Zahlreiche Virusarten vermehren sich in der weissen Maus und führen zu typischen Erkrankungen mit einer hohen Letalitätsrate. Zum anderen ist es möglich, weiße Mäuse in großer Zahl einzusetzen, da ihre Haltung relativ einfach und billig ist. Dadurch erhöht sich die Signifikanz der Versuchsergebnisse ganz wesentlich.

Die Pathogenese von Virusinfektionen ist sehr unterschiedlich. Neben lokalen Erkrankungen kommen auch sehr viele zyklisch verlaufende Krankheiten vor. Nach dem Ablauf der pathogenetischen Ereigniskette lassen sich dabei bestimmte Gruppen mit gemeinsamen Eigenschaften fest-

legen, zum Beispiel zyklisch verlaufende Virusinfektionen mit Manifestation im Respirationstrakt, im Digestionstrakt, im Urogenitaltrakt oder im Zentralnervensystem.

Bei der Austestung der Wirksamkeit von antiviralen Präparaten muß diesen pathogenetischen Gegebenheiten Rechnung getragen werden. Das heißt, die betreffenden Präparate müssen in verschiedenen pathogenetischen Versuchsmodellen untersucht werden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, derartige Versuchsmodelle bei der weissen Maus zusammenzustellen und im experimentellen Teil einige typische Infektionsmodelle auf ihre Eignung für die Testung antiviraler Präparate zu untersuchen.

2. LITERATUR

2.1. Einführung

Die Virusinfektionskrankheiten lassen sich nach pathogenetischen Kriterien in folgende Gruppen grobschematisch gliedern:

1. Lokalinfektionskrankheiten
2. virale Tumorerkrankungen
3. viral bedingte Immunkrankheiten
4. Allgemeininfektionskrankheiten.

Charakteristisch für die lokalen Virusinfektionskrankheiten ist, dass die Eintrittspforte gleichzeitig auch Manifestationsorgan ist und der Erreger sich nicht über den Gesamtorganismus ausbreitet, sondern sich nur lokal vermehrt.

Der Gesamtorganismus wird durch derartige Erkrankungen nicht oder nur geringgradig belastet. Die Abwehr der Infektion erfolgt durch die lokalen Resistenz- und Abwehrmechanismen.

Auch bei den durch Viren verursachten Tumorerkrankungen wird der Gesamtorganismus erst relativ spät in das Infektionsgeschehen eingeschaltet, während die pathogenen Veränderungen in den Frühstadien in der Regel auf bestimmte Gewebe beziehungsweise Organe (zum Beispiel Mamma) oder Zelltypen (zum Beispiel Blutbestandteile) beschränkt bleiben.

Die immunpathogenen Folgen von Virusinfektionen manifestieren sich ebenfalls in ganz bestimmten Organen oder Organbezirken (zum Beispiel Glomerulonephritis) und führen erst durch die Schädigung derselben sekundär zu Erkrankungen unter Mitbeteiligung des Gesamtorganismus.

Im Gegensatz hierzu entstehen die Virusallgemeininfektionen dadurch, dass sich die Infektion von der Eintrittspforte aus über den Gesamtorganismus ausbreitet und im späteren Verlauf dann, je nach Erregerart, zu typischen Organmanifestationen führt, die den Charakter der Virusallgemeinkrankheiten prägen.

Unter dem Begriff der Allgemeininfektionskrankheit faßt man einen Komplex recht unterschiedlicher pathogenetischer Verlaufsformen zusammen, denen lediglich gemeinsam ist, dass sie durch Verbreitung des Erregers über den Gesamtorganismus zustandekommen. Zu ihnen gehören:

1. Zyklisch verlaufende Virusallgemeininfektionen
2. nicht zyklisch verlaufende Virusallgemeininfektionen
 - a) neurale Infektionen beziehungsweise Erkrankungen des Zentralnervensystems ohne nachweisbaren zyklischen Verlauf
 - b) chronische Infektionen ohne zyklischen Verlauf.

Von obigen Virusallgemeinkrankheiten eignen sich zum Studium antiviraler Medikamente am besten die zyklisch verlaufenden Viruskrankheiten. Bei ihnen wird der Erreger von der Eintrittspforte bis zur endgültigen Organmanifestation, die zum Ausbruch der Erkrankung führt, eine gesetzmäßige Folge von pathogenetischen Stadien durchlaufen, an denen eine antivirale Therapie zahlreiche Chancen hat, aktiv zu werden. So kann ein Medikament die Ansiedlung des Erregers bereits an der Eintrittspforte unmöglich machen; es kann aber auch erst bei der Vermehrung des Erregers in den primär affinen Organen eingreifen oder die generalisierende Virämie verhindern. Schließlich besteht die Möglichkeit, dass bestimmte Substanzen das Stadium der Organmanifestation beeinflussen und dadurch je nach Art der Organmanifestation eine Krankheit unterdrücken.

Da bei zyklisch zustandekommenden Viruskrankheiten der Gesamtorganismus mit all seinen "Empfindlichkeiten" und Abwehrmechanismen unspezifischer (Resistenz) wie spezifischer Art eingeschaltet ist, können antivirale Medikamente auch dadurch den zyklischen Verlauf stören, dass sie generell die Abwehrfähigkeit des Organismus erhöhen, zum Beispiel im Sinne einer Resistenzsteigerung oder einer aktiven Bildung von Interferon.

2.2. Zyklische Virusallgemeinerkrankungen (16, 19, 51)

Eine zyklisch verlaufende Viruskrankheit ist dadurch charakterisiert, dass von der Infizierung bis zur Erkrankung stets eine gesetzmäßig genormte, pathogene-tische Ereigniskette abläuft, die für die jeweilige Virusart typisch ist. Dabei werden folgende Grundstadien durchlaufen:

1. Stadium: Ansiedlung und Vermehrung des Erregers an der Eintrittspforte oder dem ersten Haftort
2. Stadium: Ausbreitung des Virus über den Blut- oder Lymphstrom
3. Stadium: Vermehrung in den primär affinen Organen
4. Stadium: generalisierende Virämie
5. Stadium: Organmanifestation
6. Stadium: Eliminierung der Erreger, Rekonvaleszenz, chronische Organmanifestation oder Tod des Organismus.

Das erste Stadium spielt bei den Virusallgemeinerkrankungen nur eine untergeordnete Rolle. Nur selten findet man am Eintrittsort den sog. Primärherd, von dem aus der Erreger über das Blut, die Lymphe oder über die Nervenbahnen weiter verbreitet wird. Die erste Virämie hat den Zweck, die Erreger an Organsysteme zu bringen, die nur eine geringe Gewebeschanke

besitzen und so eine starke Vermehrung ermöglichen. Man bezeichnet sie als primär affine Organe. In der Regel sind dies die Gewebe des reticulären Systems, wie Tonsillen, Lymphknoten, Leber, Milz usw. Durch die Vermehrung in den primär affinen Organen gelangt der Erreger in so grossen Mengen ins Blut, dass die Gewebeschränken der Manifestationsorgane durchbrochen werden, eine sog. generalisierende Virämie entsteht und so eine Vermehrung in den für die betreffende Virusart typischen Manifestationsorganen einsetzen kann. Mit Beginn der generalisierenden Virämie ist die Inkubationszeit abgeschlossen und das Prodromalstadium beginnt.

Dies ist gekennzeichnet durch unspezifische Störungen des Allgemeinbefindens. Erst mit der Ansiedlung in den Manifestationsorganen bilden sich die für die jeweilige Virusinfektion typischen klinischen Symptome aus.

Die Art des Manifestationsorgans hängt stark von der Virusart ab. Influenzaviren manifestieren sich zum Beispiel im Respirationstrakt, Enteroviren im Digestionsstrakt, Tollwutviren im Zentralnervensystem. Je nach Vermehrung im Manifestationsorgan verläuft die Krankheit akut, chronisch oder abortiv. Die Quantität der Schäden bestimmt dann letztlich das Schicksal des Kranken. Führen die Schäden zum totalen Organausfall, tritt der Tod ein. Gelingt es der Abwehr des Organismus die Vermehrung in den Organen zu limitieren, dann kommt es zur Rekonvaleszenz.

Da die körpereigenen Abwehrmechanismen aber nicht nur in diesem letzten Stadium wirksam werden, sondern schon früher, kann die zur Organmanifestation führende Ereigniskette an jeder beliebigen Stelle unterbrochen werden. Die erst kritische Phase findet in

den primär affinen Organen statt. Nur wenn sich die Erreger hier in ausreichendem Maße vermehren können, ist die generalisierende Virämie möglich.

Nach der Art der Manifestationsorgane kann man die zyklischen Virusallgemeinerkrankungen einteilen in Erkrankungen mit Manifestation im

1. Zentralnervensystem
2. Respirationstrakt
3. Digestionstrakt
4. Urogenitaltrakt
5. in der Haut
6. Gefäßsystem
7. Immunsystem.

Während einige Virusarten einen ausgeprägten Tropismus für ein bestimmtes Organsystem besitzen, zum Beispiel Tollwutvirus für das Zentralnervensystem oder die Influenzaviren für den Respirationstrakt, gibt es auch Virusarten, die sich in verschiedenen Organsystemen manifestieren können. Erwähnt seien in diesem Zusammenhang die Enteroviren, die sich unter besonderen krankheitsfördernden Umständen nach einer ersten Organmanifestation im Digestionstrakt, auch im Gehirn vermehren und zu schwersten Schädigungen führen können.

2.2.1. Zyklische Virusallgemeinerkrankheiten mit Manifestation im Zentralnervensystem

Bei den Viruskrankheiten des Zentralnervensystems muss klar zwischen den Infektionen unterschieden werden, bei denen der Erreger direkt über die Nervenbahnen in das Gehirn gelangt (neurale Virusallgemeinerkrankungen ohne Zyklischen Verlauf), wie zum Beispiel Borna, Aujeszky'sche Krankheit der Schweine, und denen, die alle Stadien einer echten zyklischen Infektionskrankheit durchlaufen.

Hierzu gehören die Poliomyelitisinfektionen des Menschen und der Tiere, die Pferdeencephalomyelitiden u.ä.

Grundsätzlich sind virusbedingte Entzündungen des Zentralnervensystems nicht eitrig. Sie sind durch lymphohistiozytäre Infiltrate, Nervenzelldegenerationen und gliöse Reaktionen gekennzeichnet. Ist das Blut Träger der Infektion, stehen die mesenchymalen Veränderungen an erster Stelle mit dem Endergebnis einer Pan-encephalitis. Verläuft die Infektion rein neural, ist eine Nervenzelldegeneration der Anfang der pathologischen Ereignisse und das Gesamtbild stellt sich als Polioencephalitis dar. Vertreter dieser Verlaufsform sind Tollwut, Herpes-B-Virus-Infektionen beim Menschen und gelegentlich Polio.

2.2.2. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Respirationstrakt

Bei den virusbedingten Erkrankungen des Respirationstraktes sind die pathogenetischen Anfangsstadien meist schwer zu erkennen, da Eintrittspforte und Manifestationsorgan oft identisch sind oder zumindest räumlich in einem engen Kontakt stehen (zum Beispiel Nase-Lunge). Bei einer Reihe derartiger Infektionskrankheiten (zum Beispiel Influenzainfektionen) gelingt es oft nicht, ein Virämienstadium nachzuweisen, da durch die hohe Empfänglichkeit des Respirationstraktes bereits sehr kleine Erregerzahlen ausreichen, um die Gewebeschränken zu durchbrechen.

Reine Viruspneumonien sind durch lympho-plasmo-histiozytäre Infiltrate im Interstitium gekennzeichnet. Das pathologische Bild wird aber häufig durch Sekundärinfektionen (Bakterien, Pilze) kompliziert.

Neben den Viren der Orthomyxovirusgruppe besitzen auch die Adenoviren, ein großer Teil der Paramyxoviren, die Rhinoviren, die Reoviren, einige Enterovirusarten und ähnliche Viren eine besondere Affinität zum Respirationstrakt. Sie unterscheiden sich dabei bezüglich ihres Tropismus zu den verschiedenen Teilen des Respirationstraktes. Während sich zum Beispiel die Rhinoviren bevorzugt in den Nasenschleimhäuten ansiedeln und vermehren und auf diese Weise den typischen Schnupfen verursachen können, vermehren sich Adenoviren bevorzugt im Nasenrachenraum oder die Influenzaviren in der Lunge.

Einige Vertreter der "pneumotropen" Viren besitzen daneben auch eine Affinität zum Urogenitaltrakt. Typische Vertreter dieser Gruppe sind das Herpes-Virus-1 des Pferdes und das IBR/IPV-Virus des Rindes. Die Wahl des Manifestationsorganes wird hierbei weitgehend durch das Alter des Wirtes bestimmt.

2.2.3. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Digestionstrakt

Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Digestionstrakt verlaufen, wenn sie nicht durch bakterielle Sekundärinfektionen kompliziert werden, in der Regel harmlos. Die Virämiestadien sind nicht sehr ausgeprägt. Die Virusvermehrung im Manifestationsorgan, dem Darm, kann dank der reichhaltig vorhandenen Immunsysteme relativ gut unter Kontrolle gehalten werden.

Die besondere Gefahr derartiger Infektionen liegt darin, dass die betreffenden Virusarten häufig eine zusätzliche Affinität zum Zentralnervensystem besitzen. Jede Zunahme der Virusvermehrung birgt damit das Risiko einer erneuten Virämie mit nachfolgender Ansiedlung der Erreger im Gehirn.

Als Beispiel für eine, auch im Symptomenbild eindeutige, zyklische Infektion des Verdauungsapparates möge die Rinderpest dienen: Der Eintritt des Virus erfolgt über die Schleimhäute des oberen Respirations- oder Digestionstraktes zum Beispiel mit der Nahrung. Die Weiterverbreitung über Blut- und Lymphgefäße und die Vermehrung in der Schleimhaut hat schließlich eine Entzündung des Magen-Darm-Traktes zur Folge. Besonders betroffen ist die Dickdarmschleimhaut über den Lymphfollikeln.

Klinisch resultieren daraus unstillbare Diarrhoen mit blutigen Beimengungen.

2.2.4. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Urogenitaltrakt

Es sind bis heute nur wenige Virusarten bekannt, die sich ausschließlich im Urogenitaltrakt zu manifestieren vermögen. Es besteht ein gleichzeitiger Tropismus zu anderen Organen, zum Beispiel zum Respirationstrakt. So können zum Beispiel das Virus der Rhinopneumonitis der Pferde wie auch der infektiösen bovinen Rhinotracheitis je nach Alter und Kondition des Wirtsorganismus sowohl zu respiratorischen Erkrankungen als auch Erkrankungen im Bereich des Genitaltraktes, wie Aborte, Vulvovaginitis usw. führen.

2.2.5. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation in der Haut

Viele zyklische Virusallgemeinerkrankungen manifestieren sich durch Befall der Haut. Über die Kapillaren und die Nervenendigungen dringt das Virus zentrifugal in die Peripherie vor und infiziert über Fibroblasten und Makrophagen die verschiedenen Schichten der Haut.

Neben den Viren der Orthomyxovirusgruppe besitzen auch die Adenoviren, ein großer Teil der Paramyxoviren, die Rhinoviren, die Reoviren, einige Enterovirusarten und ähnliche Viren eine besondere Affinität zum Respirationstrakt. Sie unterscheiden sich dabei bezüglich ihres Tropismus zu den verschiedenen Teilen des Respirationstraktes. Während sich zum Beispiel die Rhinoviren bevorzugt in den Nasenschleimhäuten ansiedeln und vermehren und auf diese Weise den typischen Schnupfen verursachen können, vermehren sich Adenoviren bevorzugt im Nasenrachenraum oder die Influenzaviren in der Lunge.

Einige Vertreter der "pneumotropen" Viren besitzen daneben auch eine Affinität zum Urogenitaltrakt. Typische Vertreter dieser Gruppe sind das Herpes-Virus-1 des Pferdes und das IBR/IPV-Virus des Rindes. Die Wahl des Manifestationsorganes wird hierbei weitgehend durch das Alter des Wirtes bestimmt.

2.2.3. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Digestionstrakt

Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Digestionstrakt verlaufen, wenn sie nicht durch bakterielle Sekundärinfektionen kompliziert werden, in der Regel harmlos. Die Virämiestadien sind nicht sehr ausgeprägt. Die Virusvermehrung im Manifestationsorgan, dem Darm, kann dank der reichhaltig vorhandenen Immunsysteme relativ gut unter Kontrolle gehalten werden.

Die besondere Gefahr derartiger Infektionen liegt darin, dass die betreffenden Virusarten häufig eine zusätzliche Affinität zum Zentralnervensystem besitzen. Jede Zunahme der Virusvermehrung birgt damit das Risiko einer erneuten Virämie mit nachfolgender Ansiedlung der Erreger im Gehirn.

Als Beispiel für eine, auch im Symptomenbild eindeutige, zyklische Infektion des Verdauungsapparates möge die Rinderpest dienen: Der Eintritt des Virus erfolgt über die Schleimhäute des oberen Respirations- oder Digestionstraktes zum Beispiel mit der Nahrung. Die Weiterverbreitung über Blut- und Lymphgefäße und die Vermehrung in der Schleimhaut hat schließlich eine Entzündung des Magen-Darm-Traktes zur Folge. Besonders betroffen ist die Dickdarmschleimhaut über den Lymphfollikeln. Klinisch resultieren daraus unstillbare Diarrhoen mit blutigen Beimengungen.

2.2.4. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Urogenitaltrakt

Es sind bis heute nur wenige Virusarten bekannt, die sich ausschließlich im Urogenitaltrakt zu manifestieren vermögen. Es besteht ein gleichzeitiger Tropismus zu anderen Organen, zum Beispiel zum Respirationstrakt. So können zum Beispiel das Virus der Rhinopneumonitis der Pferde wie auch der infektiösen bovinen Rhinotracheitis je nach Alter und Kondition des Wirtsorganismus sowohl zu respiratorischen Erkrankungen als auch Erkrankungen im Bereich des Genitaltraktes, wie Aborte, Vulvovaginitis usw. führen.

2.2.5. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation in der Haut

Viele zyklische Virusallgemeinerkrankungen manifestieren sich durch Befall der Haut. Über die Kapillaren und die Nervenendigungen dringt das Virus zentrifugal in die Peripherie vor und infiziert über Fibroblasten und Makrophagen die verschiedenen Schichten der Haut.

Pocken und Maul- und Klauenseuche sind die bekanntesten zyklischen Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestationen in der Haut. Bei den Pocken kann die natürliche Infektion sowohl über die Schleimhäute des oberen Respirationstraktes als auch über die Haut selbst erfolgen. Als primär affine Organe werden Leber und Milz genannt. Hauptmanifestationsorgan ist zwar die Haut, doch sind auch Manifestationen in den inneren Organen und im Zentralnervensystem möglich.

Auch bei Infektionen deren primäres Manifestationsorgan der Verdauungstrakt, der Respirationstrakt, das Gefäßsystem usw. ist, werden sekundär häufig Hautveränderungen beobachtet. Beispiele sind das Vesicular-Exanthem des Schweines, die Stomatitis vesicularis, das bösartige Katarrhalfieber, die Schweinepest, die Mucosa disease u. ä.

Hautveränderungen sind ausserdem recht häufig mit Manifestation im Zentralnervensystem gekoppelt. Typisch dafür ist der Verlauf einer Herpesvirus hominis-Infektion in der haarlosen Albinomaus, bei der eine schnellverkrustende Bläscheneruption mit zonaler Ausbreitung einer tödlichen Encephalitis vorausgeht (59).

2.2.6. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Gefäßsystem

Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Gefäßsystem müssen, bedingt durch die Ausdehnung des Gefäßsystems im gesamten Körper, besonders schwerwiegende Folgen haben. Im Gegensatz zu den anderen Virusinfektionen, die sich zwar über das Blut verbreiten, dabei aber zumindest keine tiefgreifenden Veränderungen hervorrufen, beeinträchtigen diese nun das Gefäßsystem selbst. So kommt es zum Beispiel bei der Schweine-

pest nach der ersten Vermehrung in den Tonsillen und den regionären Lymphknoten - den primär affinen Organen - zu einer generalisierenden Virämie, in deren Verlauf Virus sich in den Gefäßendothelien, den weißen Blutzellen und im lymphoretikulären Gewebe - den sogenannten Manifestationssystemen - ansiedelt. Hierdurch entstehen ausgedehnte Hämorrhagien, die sehr schnell zum Tode führen.

Neben dieser Verlaufsform ist allerdings auch die Manifestation im Darm, in der Niere, dem Pankreas und sonstigen Drüsen, sowie in Gehirn und Lunge möglich, wobei weniger typische Erkrankungsbilder entstehen.

Eine Manifestation im Gefäßsystem erfährt auch das Virus der Pferdearteritis. Durch die Schäden an den Gefäßendothelien, sie bestehen in Entzündungen und Nekrosen in den kleinen Arterien, entstehen typische Ödeme, Schleimhautblutungen, Atemnot und Koliken. Auch hier ist die Mortalitätsrate sehr hoch.

2.2.7. Zyklische Virusallgemeinkrankheiten mit Manifestation im Immunsystem

Besondere Schwierigkeiten bereitet die Entscheidung, ob und wann bei einer zyklisch verlaufenden Virusallgemeinerkrankung von einer Manifestation im Immunsystem gesprochen werden kann. Das Immunsystem wird ja letztlich bei jedem Infektionsgeschehen in irgendeiner Weise in die Auseinandersetzung Erreger-Wirt mit eingeschaltet, das heisst, die Zellen der Abwehrsysteme treten in direkten Kontakt mit den eingedrungenen Erregern. Das Immunsystem als Manifestationsorgan zu bezeichnen, ist aus diesem Grunde nur dann sinnvoll, wenn sich die betreffende Virusart in den Zellen des Immunsystems vermehrt und dort auch zu Schäden führt.

Als Autoimmunkrankheit kann die lymphocytäre Chorio-meningitis, wenn sie im Alter als Glomerulonephritis klinisch manifest wird, gelten. Nach congenitaler Infektion entwickelt sich eine immunologische Toleranz, die mit zunehmendem Alter durchbrochen werden kann. Schädigungen des Wirtes entstehen bei der Glomerulonephritis durch Antigen-Antikörper-Komplexe in den Tubuli der Nieren. Auch immunsuppressive Wirkungen können bei LCM beobachtet werden, beim gleichzeitigen Auftreten bestimmter Formen von Leukämie. Andererseits ist aber der Verlauf einer solchen Leukämie milder. Die zugrundeliegenden Ursachen solcher Reaktionsweisen sind noch nicht restlos geklärt. Typische Krankheiten des Immunsystems sind die verschiedenen Formen von Leukämie. Dabei wird die Antikörperbildung (humorale Immunität) anderen Viren gegenüber durch die ungehemmte Proliferation der Leukämie-infizierten Zellen gehemmt.

Eine Abnahme zellulärer Abwehrmechanismen wird auch bei einer Infektion mit dem Lactat-Dehydrogenase-Virus der Maus beobachtet.

2.3. Infektionsmodelle in der weissen Maus zur Testung antiviraler Substanzen

Die Literaturangaben über die Testung antiviraler Substanzen in der weissen Maus sind nicht nur sehr zahlreich, sondern gleichzeitig auch sehr verwirrend. Verwirrend deshalb, weil sie häufig keine echten Vergleichsmöglichkeiten bieten. Das ist andererseits nicht überraschend, denn jede Virusinfektion bietet in ihrem Verlauf eine Reihe unterschiedlicher Möglichkeiten ihrer Beeinflussung. Je nach der Art der Testsubstanz hat deshalb jede Arbeitsgruppe das Infektionsmodell und den Behandlungsmodus gewählt, der ihr am geeignetsten erschien, eine mögliche Wirkung der Testsubstanz auf den Infektionsverlauf zu verdeutlichen.

Je intensiver aber die Suche nach gut wirksamen antiviralen Substanzen durchgeführt wird, um so dringlicher erscheint es, eine Palette von Infektionsmodellen zur Verfügung zu haben, die einmal gut standardisiert sind und zum anderen möglichst unterschiedlich bezüglich ihrer Pathogenese sind.

Sichtet man die in den letzten Jahren erschienenen Veröffentlichungen nach diesen Gesichtspunkten, so erhält man zwar eine Fülle recht unterschiedlicher Daten, kann aber doch einige Grundtendenzen und Gemeinsamkeiten herausarbeiten, die bei der Entwicklung von standardisierten Infektionsmodellen wertvolle Dienste leisten.

2.3.1. Infektionsmodelle mit Manifestation im Zentralnervensystem (TABELLE 1)

Der klinische Verlauf einer Virusinfektion des Zentralnervensystems in der weißen Maus ist häufig der einer akuten, meist tödlich endenden Systemerkrankung. Erkrankte Tiere zeigen die Symptome einer Encephalitis, vor allem Paresen oder Paralyse der Hinterextremitäten, häufig ist aber der klinische Verlauf so stürmisch, dass die Tiere vor Auftreten typischer Zentralnervensystemerscheinungen sterben.

Die verwendeten Viren entstammen zum grössten Teil der Familie Picornaviridae. Besonders häufig werden Versuchsmodelle mit Columbia SK und Encephalomyokarditis-viren beschrieben. Die Inokulation erfolgt dabei vorwiegend subcutan oder intraperitoneal in einer Dosis von 3 bis 250 LD₅₀ bei einer Mortalität von 83 bis 100 % und einem mittleren Todestag von 4 bis 8. Columbia SK-Virus wird auch über Aerosolapparaturen und oral verabreicht. Ein Vergleich der Letalitätsdosen für 50 % eines Tierkollektivs zeigt, dass die erforderlichen Infektionsmengen bei intraperitonealer und intracerebraler Applikation annähernd gleich sind, der Inhalationsweg aber wesentlich höhere Konzentrationen erfordert (1).

Bei den Coxsackie- und MKS-Viren muss beachtet werden, dass die Resistenz der Maus gegen diese Viren mit steigendem Alter zunimmt. So tritt zum Beispiel bei MKS-Infektionen von 2 - 5 Tage alten Mäusen nach 20 bis 48 Stunden eine spastische Parese der hinteren Körperhälfte und schließlich des ganzen Körpers ein, auf die der Tod in 12 Stunden folgt.

Bei älteren Mäusen ist erst ab 4. Tag nach Auftritt der Symptome eine 90%-ige Muskelfaserdegeneration oder Encephalomyelitis mit Todesfolge zu beobachten.(78).

Infektionsversuche mit Coxsackie-Viren können nur mit 25 bis 48 Stunden alten Babymäusen durchgeführt werden, da ältere Tiere sehr schnell unempfindlich gegen diese Virusart werden (52).

Ebenfalls stark altersabhängig ist auch die experimentelle Infektion mit Reoviren.

Nur Säuglingsmäuse (bis 2 Tage alt) zeigen nach einer Inkubationszeit von 7 bis 10 Tagen cerebrale und hepato-viscerale Symptome, wie Ataxie, Steatorrhoe, "oily hair" und Wachstumsverzögerungen (73, 46, 36, 83). Die hepatovisceralen Symptome werden dabei als Ausdruck einer Allgemeinerkrankung, nicht eines Hepatotropismus gewertet.

Je nach Inokulationsart schwanken die Angaben über die verwendeten Infektionsmengen von 10 ID_{50} (intracerebral) bis zu 10^5 ID_{50} (subcutan bzw. oral). Berechnungen der Mortalität oder der mittleren Todestage oder ähnliches liegen von diesen Modellversuchen nicht vor (77, 15).

Auch der ein Neurotoxin bildende Influenzastamm "NWS" wurde für die Testung von antiviralen Substanzen eingesetzt (61). Da es sich hierbei um einen Stamm handelt, der sehr gut an das Gehirn adaptiert ist, reichen 5 KID_{50} aus, um nach intracerebraler Infektion zentral-venöse Störungen hervorzurufen. Tonisch-klonische Krämpfe können im Anfangsstadium der Erkrankung durch Herumwirbeln der Tiere am Schwanz ("spinning test") provoziert werden.

Bei der Tollwutinfektion der weissen Maus tritt der Tod nach intracerebraler, intramuskulärer oder intraplantarer Infektion zwischen dem 7. und 10. Tag post infectionem ein (52, 24, 62, 34).

Für die Infektion mit Laborstämmen eignen sich ca. 3 Wochen alte Mäuse gut, während Infektionsversuche mit dem Straßenvirus auch in älteren Tieren positiv verlaufen. Der mittlere Todestag liegt bei 8, während die Mortalität zwischen 12 % (Laborstämme) und 75 % (Straßenvirus) schwankt.

Selten wird das Virus der Stomatitis vesicularis für intracerebrale Infektionsversuche verwendet. Da diese Virusart hochpathogen für die weiße Maus ist und der Krankheitsverlauf sehr stürmisch - der mittlere Todestag liegt zwischen 4 und 9 - besteht nur geringe Aussicht, dass eine antivirale Substanz ihre Wirksamkeit entfalten kann.

Die lymphozytäre Choriomeningitis, die im natürlichen Infektionsgeschehen congenital übertragen wird, wird im Experiment bei 1 bis 4 Wochen alten, nicht toleranten Mäusen erzeugt und endet zwischen 5. und 10. Tag post infectionem tödlich (20). Ein besonderes Kennzeichen dieser Infektion ist das Auftreten klonischer Krämpfe nach Anheben oder Drehen des Schwanzes (52).

Ein ausgesprochen vielbeschriebenes Infektionsmodell liefert das Semliki-Forest-Virus.

Auf alle möglichen Arten parenteral inokuliertes Virusmaterial erzeugt in wenigen Tagen eine generalisierte Infektion, die bei starker Virusreplikation im Gehirn meist tödlich endet. Die Infektionsdosen reichen dabei von 2 bis 1 000 LD₅₀ mit einer Mortalität von 65 bis 100 % und einem mittleren Todestag von 3 bis 14 Tagen (49, 76, 83, 17, 5, 73).

Obgleich altersbedingte Unterschiede in der Empfänglichkeit für dieses Virus bestehen - dieselbe Viruskonzentration hat in 10 g schweren Mäusen die Wirkung von 32 LD₅₀, in 25 g schweren Mäusen die Wirkung von 21 LD₅₀ (39) - schwanken die Angaben über das Gewicht der verwendeten Mäuse von 10 bis 25 g.

Langat und West-Nil-Virus, wie das Semliki-Forest-Virus zur Gruppe der Togaviridae zählend, rufen ebenfalls tödliche Enzephalitiden hervor. Die angegebenen Infektionsmengen scheinen sehr hoch, da zur Austitrierung intracerebral, im Infektionsversuch aber intraperitoneal bzw. intraplanar infiziert wurde (31, 72). Aber auch mit anderen Vertretern aus der Gruppe der Togaviridae können wegen der hohen Mauspathogenität dieser Virusarten Infektionsversuche durchgeführt werden. Nachteil dieser Infektionsmodelle ist, dass die meisten Virusarten menschenpathogen sind.

Eine Manifestation im Zentralnervensystem zeigen auch Herpes-simplex-Infektionen in der weissen Maus. Eine intraperitoneale Infektion von 10 bis 63 LD₅₀ Herpes simplex-Virus endet in 75 bis 100 % der Fälle tödlich. Die mittlere Überlebenszeit beträgt 7 bis 9 Tage. (29, 32, 44).

Beim Herpes suis-Virus sind sowohl das Alter der Versuchstiere als auch die Inokulationsroute wichtig. 1 LD₅₀ i.m. appliziert entspricht in erwachsenen Mäusen einer Virusverdünnung von 10^{-4} , in einer Woche alten Mäusen 10^{-7} . Ausserdem sind erwachsene Mäuse bei intracerebraler Infektion 100 000 mal empfänglicher als bei subcutaner oder intraperitonealer Infektion (35).

Detaillierte Informationen über die von den verschiedenen Arbeitsgruppen verwendeten Infektionsmodelle sind in der TABELLE 1 zusammengestellt.

TABELLE 1: Daten der wichtigsten Infektionsmodelle in der weissen Maus mit Manifestation

im Zentralnervensystem

Erklärung der Tabellen siehe Seite 31

VIRUSART	GEWICHT bzw. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUSVERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
<u>1. PICORNAVIRIDAE</u>						
Columbia SK-Virus	18-22 g	s.c.	(10 ⁻⁶)	86 %	5	44
" "	" "	s.c.	18 LD ₅₀	100%	4,7	39
" "	4 Wochen	s.c.	3 LD ₅₀	83 %	5,5	61
" "	14-19 g	s.c.	30 LD ₅₀	95,6 %		62
" "	" "	i.n.	(10 ⁻³)			44
" "	14-19 g	i.n.	30 LD ₅₀	83,3 %		61
" "	" "	aerosol	3 LD ₅₀ =25,2 PFU	100 %		1
" "	9-11 g	i.p.	10 LD ₅₀	100 %	8	29
" "	" "	i.p.	30 LD ₅₀	96,7%	5	41
" "	18-22 g	i.p.	LD ₇₀₋₉₀			9
" "	" "	i.p.	10 LD ₅₀	100 %	bis 5	13
Columbia SK-Virus Jungblut	12-18 g	oral		40,3%		28
Encephalomyokar- ditis-Virus	15 g	i.p.	10 ³ KID ₁₀₀ = LD ₇₀₋₉₀	100 %		22
" "	1 Monat	i.p.	250 LD ₅₀	100 %	4,8 bzw. 3,9	25
" "	1 Monat	i.p.	100 LD ₅₀	100 %	4,7	25
" "	1 Monat	i.p.	13 LD ₅₀	100 %	4,9	25
" "	1 Monat	i.p.	8 LD ₅₀	84 %	6,2	25
" "	1 Monat	i.p.	15 LD ₅₀	100 %		24

1
19
1

VIRUSART	GEWICHT bzw. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUSVERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
Encephalomyokar- ditis-Virus		i. p.	1-2 LD ₅₀	76 %		24
Mengo-Virus	15-18 g	s. c.	39 LD ₅₀	95 %	5, 6	39
Mengo-Virus/L	25 g	i. v., i. p.	2 x 10 ⁸ PFU	100 %	4-6	54
Mengo-Virus/L	22-24 g	i. p.	1, 2 x 10 ⁸ PFU	62-93 %	3-6	69
MM-Virus		i. p.	3 LD ₅₀	90 %	4-7	37
Coxsackie-Virus						
A 21/Coe	11-13 g	i. p.		95 %	8	44
Coxsackie/B1	11-13 g	i. p.	(10 ⁻¹)	35 %	6	44
Coxsackie/B1	18-20 g	i. p.	10 LD ₅₀		8	29
Echo 9-Virus	2-4 Tage	s. c.	10 LD ₅₀		10	29
Poliomyelitis- Virus (Polio) II/Lansing						
Maul- u. Klauen - seuche-Virus Asia I	4 Wochen	i. c.	1 LD ₅₀ = 10 ^{4,5}			61
" " /Typ C		i. p.	100 LD ₅₀ (10 ⁻³)	100 %	Symptome am 10. Tag	70, 71
2. <u>DIPLONAVIRIDAE</u>						47
Reovirus	2 Tage	s. c.	10 ⁴ KID ₅₀ = 100 ID ₅₀			
Reovirus /3		oral	10 ⁵ ID ₅₀			79
Reovirus /3		i. c.	10-100 ID ₅₀			15

VERSUCHS- GEBIET	GEWICHT LZW. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUS VERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
3. ORTHOMYXOVIRUS						
Influenzavirus/NWS		i.c.	5 KID ₅₀			61
4. RHABDOVIRUS						
Tollwutvirus/17 D	1 1/4-16 g	i.plant.	(1:200)			62
Tollwutvirus	3 Wochen	i.c.	(1:20)	12 %		24
Tollwutvirus/CVS	20-22 g	i.c.	10 LD ₅₀		8	62
Tollwutvirus/Stras- senvirus	3-4 Monate	i.m.	(1:20)	75 %		34
Virus d. Stomatitis vesicularis		i.c.	252 LD ₅₀	100 %	4	39
" "	13,1 g	i.n.	10 ⁶ PFU		6-9	55
5. ARENAVIRUS						
Lymphocytäre Cho- riomeningitis Virus/NY 621	5-11 g	i.c.	LD ₈₀₋₅₀			20,23
" "		i.c.	10 ⁵ KID 50		7-10	60
" /WE 3		i.v.	10 ⁵ LD ₅₀			57

VIRUSART	GEWICHT bzw. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUSVERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
6. TOGAVIRIDAE						
Semliki-Forest Virus	10-25 g	s.c.	27 LD ₅₀	100 %	6,6 - 8,8	49
"	10-25 g	s.c.	32 LD ₅₀	100 %	6,5	49
"	25 g	s.c.	21 LD ₅₀	100 %	7-10	49
"	10-15 g	i.v., s.c.	10 ³ PFU	60 %	4-10	77
"	20-25 g	i.p., s.c.	2 LD ₅₀	65 %		85
"	4 Wochen	i.p., s.c.	10-10 ³ LD ₅₀	100 %	3,8	74
"	18-20 g	i.p., i.m.	200 LD ₅₀	100 %	- 7	17
"	3-5 Tage	i.p., i.c.			3-14	5
West-Nil-Virus		i.p.	10 ⁴ LD ₅₀	100 %	7-10	31
Langat-Virus	25 Tage	i.c. +	10 ² LD ₅₀	30 %	ab 9.	72
Langat-Virus	25 Tage		10 ⁸ LD ₅₀	79 %	ab 6.	72
Gelbfieber-Virus	16-18 g	i.c.	10 LD ₅₀			62
Japan B Encephali- tis-Virus/Nakayama		i.p.	10 ⁴ LD ₅₀	80 %		22
" JATH/60	13-19 g	i.p.	10 ³ LD ₅₀		11-13	48
Frühsummer-Meningo- Encephalitis-Virus HYPR	10 g	s.c.	5 LD ₅₀	80 %		40
"	10 g	s.c.	10 LD ₅₀	96 %		40

VIRUSART GEWICHT bzw. ALTER INFektions-MODUS INFektions-DOSIS (VIRUSVERDÜNNUNG) MORTALITÄT MITTLERER TODESTAG AUTOR

7. HERPES-VIRUS

Herpes suis/
Sullivan 58 Stunden i.p. 100 PFU 100 % - 3 Tg. 58

Herpes suis-Virus 3-4 Wochen i.c. 30 KID 50 50 % 35

Herpes simplex-
Virus Nutley 9-11 g i.p. 10 LD₅₀ 100 % 8 29

" /HF 18-20 g i.p. 60 LD₅₀ 100 % 6,7 32

" /HF 18-20 g i.p. 6 LD₅₀ 75 % 7,5 32

" /Sabin 18-22 g i.p. (10⁻¹) 87 % 9 44

" /Sabin i.p. 63 LD₅₀ 100 % 8,5 39

" /Sabin 4 Wochen i.c. 1 LD₅₀
(10^{-3,6}) 62

8. POXVIRIDAE

Neurovaccine-
Virus

i.c. 10³ ID 50 62

2.3.2. Infektionsmodelle mit Manifestation im Respirations-
trakt (TABELLE 2)

Ein klassisches Modell für Erkrankungen des Respirationstrakts bietet eine Infektion mit dem Influenzavirus. Das klinische Spektrum reicht von akuten entzündlich-katarrhalischen Erkrankungen der Luftwege bis zu schweren Bronchopneumonien.

Für Infektionsversuche mit der Maus müssen mausadaptierte Stämme verwendet werden, da Feldstämme häufig nur geringfügige oder gar keine Erkrankungen hervorrufen. Je nach der Art des eingesetzten Stammes sind deshalb auch die Angaben über die benötigte Infektionsdosis, Mortalität und den mittleren Todestag sehr unterschiedlich. Ebenso spielen die Eigenschaften des Stammes bei der Wahl der Inokulationsroute eine entscheidende Rolle. So haften manche Stämme nur bei Aerolisierung, nicht aber nach intranasaler Inokulation.

Infektionsdosen von 2 bis 3 LD₅₀ werden in Infektionsversuchen mit mausadaptierten Stämmen verabreicht, wobei die Mortalität zwischen 75 und 100 % schwankt, die mittlere Überlebenszeit zwischen 5 und 10 Tagen liegt. Das infektiöse Material wird entweder in die Nasenlöcher getropft oder mittels einer Aerosolapparatur eingebracht (62, 10 u. a.).

Eine genauere Kopie natürlicher Infektionsverhältnisse zeigt folgende Methode: Über Aerosol infizierte Mäuse werden nach 24 Stunden für weitere 24 Stunden mit nicht-infizierten Mäusen in Kontakt gebracht. Bei 64 % der Kontakttiere tritt eine Infektion auf (75).

Tödlich verlaufen auch Infektionen mit Parainfluenza-
viren und dem Pneumonie-Virus der Maus.

Die Tiere erkrankten an einer Pneumonie und starben um den 7. Tag post infectionem. Bei intranasaler Applikation liegen die optimalen Infektionsdosen zwischen 10 und 30 LD₅₀. Je nach Stamm liegt die Mortalität zwischen 55 % und 100 %.

Über den Nasen-Rachenraum führen sowohl Herpes-hominis- als auch Vaccinia-Infektionen zu tödlichen Erkrankungen in der Babymaus (Herpes) bzw. in der erwachsenen Maus (Vaccine). Die Manifestation im Respirationstrakt scheint dabei aber wegen der Allgemeinerkrankung eine mehr untergeordnete Rolle zu spielen (24, 44).

In der Tabelle 2 sind alle näheren Daten über Infektionsmodelle mit Manifestation im Respirationstrakt zusammengefasst.

TABELLE 2: Daten der wichtigsten Infektionsmodelle in der weissen Maus mit Manifestation im
Respirationstrakt - Erklärung der Tabellen siehe Seite 31

VIRUSART	GEWICHT bzw. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUSVERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
1. ORTHOMYXO-VIRUS						
Influenza-Virus	18-22 g	i.n.	3 LD ₅₀	95 %	5-7	44
"		i.n.		80 %		24
"		i.n.	30 LD ₅₀	93 %		24
"	12-14 g	i.n.	10-30 LD ₅₀			62
"	16-20 g	i.n.	10-30 LD ₅₀		6,5-74	48
"		i.n.	2,5; 25; 0,25 LD ₅₀			4
"	13-15 g	i.n.	10-20 LD ₅₀	80 %	10, 2	76
"		i.n.	1 LD ₅₀ = (10 ⁻⁶)			61
"	9-12 g	i.n.	20 LD ₅₀		Symptome am 10. Tag	29
"	18-20 g	aerosol	50 LD ₅₀		5,8	14
"	11-13 g	aerosol	10 LD ₅₀	100 %		38
Influenza-Virus		i.n.	10 LD ₅₀	75,6 %	9,4	10
A 2/Singapur		i.p., i.v.	10 ⁸ LD ₅₀			23
"		i.n.	3-4 LD ₅₀	86 %		11
"	A 2/AA					
"	B/Massachusetts	i.n.	21 LD ₅₀	90 %	7,8	39
"	15-18 g	i.n.	20 LD ₅₀		Symptome am 10. Tag	29
"	B/DP 66					
"	A/Japan	i.n.	4 LD ₅₀	90 %	7,1	39
"	305					

VIRUSART GEWICHT bzw. ALTER INFEKTIONSMODUS INFEKTIONS-
DOSIS (VI-
RUSVERDÜNNUNG) MORTALITÄT MITTLERER
TODESTAG AUTOR

Influenzavirus A Japan 305	13-15 g	i.n.	10-20 LD ₅₀	70 %	10,0	76
"	"	i.n.	20 LD ₅₀		Symptome am 10.Tg.	29
"	"	i.n.	10-100 LD ₅₀			15
"	"	aerosol	100 ID ₅₀	50 %	7-8	75, 18
" A/Lee	13-15 g	i.n.	10-20 LD ₅₀	100 %	8, 4	76

2. METAMYXOVIRUS

Pneumonie-Virus
der Maus

i.n.	100 LD ₅₀	100 %	7	42
i.n.	1 LD ₅₀ = 10 ⁻³			61

3. PARAMYXOVIRUS

Para Influenzavirus

Sendai	9-11 g	i.n.	10 LD ₅₀	100 %		42
"	"	i.n.	30 LD ₅₀			61
"	18-22 g	i.n.	10 ^{-0,5}	55 %	7	44
" ATCC/VR 94		aerosol	10-20 LD ₅₀	100 %	9,8	76
" /1	13-15 g	i.n.	2 x 10 ³ KID 50			8
" /5						

VIRUSART	GEWICHT bzw. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUSVERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
<u>4. HERPES-VIRUS</u>						
Herpesvirus hominis	3-5 Tg.	i.n.	1 LD ₅₀	86 %		24
<u>5. POXVIRIDAE</u>						
Vaccinevi- rus/WR	18-22 g	i.n.	(10 ⁻⁰⁵)	67 %	7	44

2.3.3. Infektionsmodelle mit Manifestation in der Haut
(TABELLE 3)

Für Infektionsversuche auf der Haut werden im wesentlichen Herpes-oder Pockenviren, gelegentlich auch andere, intracutan in den Schwanz injizierte Viren wie z.B. das Virus der vesiculären Stomatitis verwendet. Beim "Schwanzpockenversuch" mit einem Virus der Stomatitis vesicularis treten 6 bis 8 Tage post infectionem eine von der Infektionsdosis abhängige Anzahl gut begrenzter Läsionen auf. Auch Pockenviren können intravenös in den Schwanz gespritzt werden (12, 39, 54, 62).

Näher an menschliche Hautinfektionen hält sich das Herpes simplex-Infektionsmodell in der haarlosen Maus. Dazu wird auf dem Rücken 8 Wochen alter Tiere nach oberflächlicher Skarifikation Virusmaterial verrieben; zwischen 3. und 6. Tag findet eine schnellverkrustende Bläscheneruption statt, die sich flächenhaft ausbreitet und nach Lähmung der Hinterextremitäten zum Tode führt. Die Angangsrate dieser Infektionsmethode liegt zwischen 50 und 75 % (59).

Einige experimentelle Virusinfektionen der Haut sind in Tabelle 3 angeführt.

TABELLE 3: Daten der wichtigsten Infektionsmodelle in der weissen Maus mit Manifestation in der Haut
 Erklärung der Tabellen siehe Seite 31

VIRUSART	GEWICHT bzw. ALTER	INFEKTIONS- MODUS	INFEKTIONS- DOSIS (VI- RUSVERDÜNNUNG)	MORTALITÄT	MITTLERER TODESTAG	AUTOR
<u>1. HERPESVIRUS</u>						
Herpes-simplex- Virus	8 Wochen	i.c. ⁺	10 ³ LD ₅₀		ab 3. Tag Symptome, ab 6. Tag Tod	59
<u>2. POXVIRIDAE</u>						
Vaccinia-Virus		s.c.	5 ID ₅₀		am 8. Tag Symptome	39
Vaccinia/IHDT	12 g	i.v.	10 ⁸ PFU		8	54
Neurovaccine		i.v.		12-30 %		62
Lymph-Pocken- Impfstoff		i.v.		10-20 %	6-8	12

Abkürzungen aus den Tabellen 1 - 3 :

DATEN DER WICHTIGSTEN INFEKTIONSMODELLE IN DER
WEISSEN MAUS

Infektionsmodus: s.c.	= subcutan
i.p.	= intraperitoneal
i.c.*	= intraverebral
i.c.	= intracutan
i.v.	= intravenös
Infektionsdosis: LD ₅₀	= Letaldosis, Dosis bei der 50 % der Versuchstiere sterben
KID ₅₀	= Infektionsdosis, Dosis bei der 50 % der Zellkulturen cytopathische Veränderungen zeigen
EID ₅₀	= Infektionsdosis, Dosis bei der 50 % der bebrüteten Hühnereier spezi- fisch verändert sind
PFU	= Plaque forming units
10 ⁻³	= Verdünnung des virushaltigen Ausgangsmaterial (meist Or- gansuspensionen) 1:1 000

2.4. Auswertungsmöglichkeiten bei der Testung antiviraler Substanzen im Infektionsversuch

2.4.1. Bewertungskriterien

1. Überlebensrate, mittlere Überlebenszeit, Mortalität mittlerer Todestag

Der Vergleich der Überlebensraten von Versuchs- und Kontrollgruppen wird am häufigsten zur Beurteilung antiviraler Substanzen im Infektionsversuch benutzt. Dabei kann die Überlebensrate entweder als Zahl der Überlebenden, bezogen auf die Gesamtzahl der Infizierten oder prozentual ausgedrückt werden.

Ein weiterer Parameter, der sich bei der täglichen Registrierung der Todesfälle ergibt, ist die Mittlere Überlebenszeit, (d.h. das arithmetische Mittel, der Summe der Einzelwerte, dividiert durch die Anzahl der Einzelwerte).

Diese Werte können auch negativ als Mortalität und mittlerer Todestag ausgedrückt werden.

GRÜNBERG (30) berechnet zusätzlich die "Wirksame Dosis" einer Testsubstanz nach REED und MÜNCH (66) als CD_{50} (= curative dose in mg/kg), sofern mehr als 50 % einer Versuchsgruppe überleben.

Einige Autoren bewerten sogar den Grad der Effektivität einer Substanz direkt nach der Mortalität, so z.B. FURUSAWA (22): hochaktive Substanzen bewirken einen Mortalitätsabfall unter oder bis zu 30 % der Kontrollmortalität, aktive einen von 31 % bis 60 %, schwach aktive einen von 61 bis 75 %.

(39, 85, 40, 77, 34, 84, 63, 74, 17, 25, 55, 23, 1, 37, 38, 69, 13, 60, 20, 21, 22, 68, 12, 82, 32, 81, 58, 47, 70, 71, 30, 48, 11, 4, 41, 44, 65, 14, 28, 61, 76).

2. Klinische und pathologische Symptome

Bei manchen Infektionsmodellen werden ausser der Feststellung der Mortalität auch noch Art und Zeitpunkt des Auftretens klinischer Krankheitserscheinungen registriert. Beispiele dafür sind Paralysen der Hinterextremitäten nach intracerebral verabreichtem Encephalomyokarditisvirus (21) oder Convulsionen nach der Infektion mit einem neurotoxischen Influenzavirusstamm (61). Zum Teil werden klinische Symptome als alleinige Prüfgrösse der Wirkung antiviraler Substanzen angewendet, vorwiegend in Infektionsmodellen mit Vaccinia-, Herpes simplex-, Vesicular-Stomatitis-Virus. Dabei treten nach intracutaner Applikation gut abgegrenzte Hautveränderungen auf, die nach Ausdehnung und Läsionsgrad beurteilt werden (77, 12, 2).

Pathologische Veränderungen, wie Ausmaß und Intensität von Lungenschäden bei Influenzavirusinfektionen oder Anstieg von Milz- oder Lebergewicht nach einer Infektion mit Friend-Leukämie-Virus, werden häufig zusätzlich zur Überlebensrate bestimmt (4, 14, 75, 63, 84).

3. Virus- und Antikörpergehalt von Manifestationsorganen und Blut

Die Feststellung des Virusgehaltes von Organen oder Blut von Versuchs- und Kontrolltieren läßt eine sehr genaue Beurteilung der Wirksamkeit antiviraler Substanzen zu und erlaubt gleichzeitig eine gewisse Lokalisierung des Effekts.

Eine Maßeinheit des Gehalts an infektiösen Einheiten ist z. B. der LD_{50} -Titer nach REED und MÜNCH (67). Zu seiner Berechnung werden gleiche Mengen virus-haltiger Organsuspensionen in steigenden Verdünnungen auf Versuchstiere verimpft. Die kumulierte prozentuale Sterblichkeit in jeder einzelnen Verdünnungsstufe wird bestimmt. Ausserdem wird ein Faktor ermittelt, der dem Abstand zwischen den beiden Virusverdünnungen proportional ist, in dem sich der 50 %-ige Endpunkt befindet:

$$\frac{\% \text{ Sterblichkeit} > 50 \% - 50 \%}{\% \text{ Sterblichkeit} > 50 \% - \% \text{ Sterblichkeit} < 50 \%} = \text{proportionaler Abstandsfaktor};$$

Der endgültige LD_{50} -Titer ergibt sich aus dem negativen Logarithmus der Verdünnung mit mehr als 50 % Sterblichkeit und dem proportionalen Abstandsfaktor:

Neg. log. der Virusverdünnung 50 % Sterblichkeit + Abstandsfaktor = neg. log. des LD_{50} -Titers;

Der LD_{50} -Titer gibt also die Virusverdünnung an, bei der 50 % der Versuchstiere tot sind.

Entsprechend mißt der ID_{50} -Titer den Verdünnungsgrad, bei dem die Hälfte der beimpften Hühnerembryonen oder Zellkulturen infiziert ist (EID_{50} , KID_{50}).

Im Mäuseschutzversuch wird z. B. der Influenzavirusgehalt in LD_{50} , EID_{50} oder KID_{50} angegeben; d.h. Mäuse, bebrütete Hühnereier und Zellkulturen sind als Testsysteme geeignet (4, 15, 10, 18).

Zum Nachweis einer Gelbfieber- oder EMC-Virusinfektion werden Blut oder Organverreibungen intracerebral Versuchstieren injiziert (2, 23), während das Semliki-Forest-Virus in Hühnerzellkulturen getestet werden kann (85).

Aus den LD₅₀-Titern leitet sich ein weiterer Maßstab zur Bewertung antiviraler Substanzen ab, der Überlebens- oder Resistenzindex. Er wird aus der Differenz der negativen Logarithmen der Virustiter in Versuchs- und Kontrollgruppe gebildet (1, 9, 73).

Bei manchen Viren z. B. Herpes simplex oder EMC-Viren bietet sich die Möglichkeit den Virusgehalt von Geweben anhand von "Plaque forming units" (PFU) in Zellkulturen direkt zu bestimmen. Man nimmt dabei an, dass eine infektiöse Einheit jeweils einen "Plaque" im Zellrasen erzeugt (21, 82).

Einen indirekten Virusnachweis liefern alle serologischen Methoden, da sie Antikörper-Titer und damit den Grad der Reaktion gegen die Virusinfektion erfassen.

Bei den hier besprochenen Versuchen werden hämagglutinationshemmende, hämolysierende oder neutralisierende Antikörper gegen Influenzaviren nachgewiesen (38,15,4,10).

Bei einer Herpes-simplex-Infektion werden Komplement-bindende Antikörper untersucht, bei einer Tollwutvirusinfektion neutralisierende Antikörper beschrieben (81,30).

Alle Aussagen über Virus- oder Antikörpermengen sind erst durch den Vergleich der Ergebnisse von antiviral vorbehandelten und unbehandelten, infizierten Kontrollgruppen als Wirkungsmaßstab für die Testsubstanzen brauchbar. Der grosse Aufwand an Material und Zeit zur Durchführung solcher Bestimmungen läßt ihre Anwendung bei Übersichtsuntersuchungen von Substanzen mit nur vermuteter antiviraler Wirksamkeit nicht sinnvoll erscheinen.

4. Interferon-Nachweis

Aufschlüsse über die Wirkung antiviraler Substanzen können auch durch den Vergleich der Interferonspiegel von vorbehandelten und unbehandelten Versuchstieren gewonnen werden.

Dies ist immer dann der Fall, wenn die antivirale Wirkung des verwendeten Präparates auf der Stimulierung der Interferonsynthese beruht (Anwendung: 65, 38, 70, 71, 58, 23, 56, 34).

Für den Interferon-Nachweis wird keine zusätzliche Testinfektion benötigt. Man gewinnt lediglich Proben (Serum, Harn, Speichel etc.) von behandelten und unbehandelten Tieren und untersucht sie auf ihren Interferon-Gehalt. Am gebräuchlichsten ist hierfür der Plaque-Reduktionstest mit dem Virus der Stomatitis vesicularis oder verschiedenen anderen Virusarten, die eine gute Plaquebildung zeigen, z.B. das Sindbis-Virus, das Semliki-Forest-Virus u.a. (Technik: 12, 34, 50, 53).

Auch für diese Methode gilt das unter 3. Gesagte; die geringen Mengen an Untersuchungsmaterial und der große Arbeitsaufwand gestatten ihren Einsatz nur in Einzelfällen.

2.4.2. Statistische Auswertung

Die in den Infektionsversuchen gewonnenen Daten können durch die Berechnung der Signifikanzwerte weiter abgesichert werden. Hierfür stehen verschiedene Methoden zur Verfügung, die aber alle auf dem gleichen Grundprinzip basieren:

Ein statistischer Vergleich mittels eines Signifikanztestes untersucht die Widerlegung oder die Untermauerung der Nullhypothese bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 bzw. 1 % ($p = 0.05$ bzw. 0.01).

Die Nullhypothese sagt aus, dass kein Unterschied zwischen zwei Versuchsgruppen im Hinblick auf das untersuchte Ereignis besteht, d. h., ein echter, signifikanter Unterschied ist vorhanden, wenn die Nullhypothese verworfen wird.

In den Signifikanztesten wird jeweils eine bestimmte Prüfgrösse errechnet und mit einem Tabellenwert verglichen. Überschreitet sie diesen, liegt Signifikanz vor.

1. Student's t-Test

(Technik: 80, 7, 6)

(Anwendung: 76, 25).

Student's t-Test ist der in den vorliegenden Infektionsversuchen am häufigsten angewandte Signifikanztest für die mittlere Überlebenszeit.

Er dient zum Vergleich zweier Mittelwerte anhand der Prüfgrösse t .

Voraussetzung für seine Anwendung ist, dass die untersuchten Merkmale aus einer Normalverteilung stammen. Diese ist definiert durch Mittelwert- und Standardabweichung. Ausserdem müssen die Varianzen (= Quadrat der Standardabweichung) in der Grundgesamtheit gleich sein.

Berechnung der Prüfgrösse t

$$t = \frac{\bar{x}_A - \bar{x}_B}{s} \cdot \sqrt{\frac{n_A \cdot n_B}{n_A + n_B}}$$

$$s = \sqrt{\frac{S(x_A - \bar{x}_A)^2 + S(x_B - \bar{x}_B)^2}{n_A + n_B - 2}}$$

- $x_{A,B}$ = Einzelwerte der Stichprobe A bzw. B;
 $\bar{x}$ = Mittelwert (die Summe aller Einzelwerte wird dividiert durch die Anzahl der Einzelwerte);
 n = Anzahl der Einzelwerte;
 s = Standardabweichung (die Summe der Abweichungsquadrate wird dividiert durch die Anzahl der Freiheitsgrade)
 S = Summenzeichen;

Überschreitet der errechnete Wert für t den in der Tabelle für die Signifikanzschwellen angegebenen Wert oder unterschreitet er den negativ angenommenen, so liegt mit 5 bzw. 1 %-iger Irrtumswahrscheinlichkeit ein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten beider Stichproben vor.

Beispiel

In einem Infektionsversuch treten nach einer Vorbehandlung mit einer antiviral wirksamen Substanz folgende Todesfälle auf: 1 am 6. Tag, 3 am 7. Tag, 2 am 8. Tag, 1 am 9. Tag und 2 am 10. Tag;

in der unbehandelten Kontrollgruppe: 2 am 2. Tag, 1 am 3. Tag, 1 am 5. Tag, 3 am 6. Tag, 5 am 7. Tag, 4 am 8. Tag, 3 am 9. Tag, 1 am 10. Tag und 1 am 11. Tag.

Es soll festgestellt werden, ob sich die beiden Gruppen bezüglich des mittleren Todestages signifikant unterscheiden.

Berechnung von t :

$$\bar{x}_A = 8;$$

$$S(x_A - \bar{x}_A)^2 = 4 + 3 \cdot 1 + 2 \cdot 0 + 1 + 2 \cdot 4 = 16;$$

$$\bar{x}_B = 6,9;$$

$$S(x_B - \bar{x}_B)^2 = 2 \cdot 24,01 + 15,21 + 3,61 + 3 \cdot 0,81 + 5 \cdot 0,01 + 4 \cdot 1,21 + 3 \cdot 4,41 + 9,61 + 16,81 = 113,81;$$

$$n_A + n_B - 2 = 9 + 21 - 2 = 28;$$

$$s = \sqrt{\frac{16 + 112,81}{28}} = \sqrt{4,6360714} = 2,1532;$$

$$t = \frac{80 - 6,9}{2,1532} \cdot \sqrt{\frac{9 \times 21}{9 - 21}} = \frac{1,1}{2,1532} \cdot \sqrt{6,3} = 0,51087 \cdot 2,50998 = \underline{1,2823};$$

Da der Tabellenwert von t bei 28 Freiheitsgraden den für t errechneten Wert überschreitet, ist keine Signifikanz gegeben.

2. Chi-Quadrat-Test

(Technik: 80, 7, 6)

(Anwendung: 76, 85, 10, 30).

Der Chi-Quadrat-Test dient zum Vergleich der prozentualen Häufigkeiten eines bestimmten Ereignisses in zwei Stichproben. Dabei darf die Gesamtzahl der Beobachtungen nicht unter 40 liegen.

Die Berechnung von χ^2 erfolgt nach der Formel

$$\chi^2 = \frac{(|a \cdot d - b \cdot c| - 1/2 \cdot n)^2 \cdot n}{(a+b) \cdot (a+c) \cdot (b+c) \cdot (c+d)} ;$$

Dabei stellen a , b , c , d und n absolute Häufigkeiten dar.

Zur Erläuterung dieses Tests ein Beispiel:

Von 30 Tieren in einer Versuchs- und Kontrollgruppe überleben nach Vorbehandlung mit einer antiviralen Substanz 20 eine Virusinfektion, während aus der gleichgrossen unbehandelten Kontrollgruppe nur 5 überleben. Ist der Unterschied zwischen beiden Gruppen signifikant ?

Zusammenstellung einer 2 x 2 Häufigkeitstafel:

	tot	lebend	Summe
Versuchsgruppe	10(a)	20(b)	30 (a+b)
Kontrollgruppe	25 (c)	5(d)	30 (c+d)
Summe	35 (a+c)	25 (b+d)	60 (n= a+b+c+d)

Berechnung von χ^2 :

1. Berechnung der beiden Diagonalprodukte:

$$20 \cdot 25 = 500 ; \quad 5 \cdot 10 = 50;$$

2. Subtraktion des kleineren vom grösseren Produkt:
450;

3. Subtraktion der Hälfte der Gesamtzahl der Beobachtungen von 2.:
420;

4. Quadrieren von 3.:
176 400;

5. Multiplizieren von 4. mit der Gesamtzahl n der Beobachtungen: 10 584 00;

6. Multiplizieren der Randsummen miteinander:
78 750;

7. Dividieren von 5. durch 6.:
 $134,4 = \chi^2$

Diese Zahl ist ein χ^2 mit einem Freiheitsgrad (dies gilt stets beim Vergleich zweier Prozentzahlen).

Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % und einem Freiheitsgrad beträgt der Tabellenwert 3,841; der errechnete Wert liegt wesentlich darüber, d.h. es ist ein signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe vorhanden.

3. Varianzanalyse

(Technik: 80, 7, 6)

(Anwendung: 25).

Dieser Test wird bei Wirksamkeitsprüfungen antiviraler Substanzen an Infektionsmodellen relativ wenig verwendet, deshalb soll an dieser Stelle nur das Grundprinzip dieser statistischen Methode erläutert werden.

Die Varianzanalyse wird zum Vergleich mehrerer Stichproben mit dem gleichen Merkmal herangezogen. Voraussetzung für ihre Anwendung ist Normalverteilung. Das Prinzip der Varianzanalyse besteht in einer Aufteilung der Summe der Abweichungsquadrate insgesamt. Ausgangspunkt ist dabei wieder die Nullhypothese, d.h., die Mittelwerte der Grundgesamtheiten sind gleich. Unter dieser Voraussetzung werden alle Stichproben zusammengefasst und der Gesamtmittelwert und die Summe der Abweichungsquadrate insgesamt ermittelt. Ausserdem wird der Mittelwert und die Summe der Abweichungsquadrate innerhalb der Gruppe in jeder einzelnen Stichprobe bestimmt. Des weiteren wird das Abweichungsquadrat jedes Stichprobenmittelwertes vom Gesamtmittelwert gebildet und daraus die Summe der Abweichungsquadrate zwischen den Gruppen berechnet.

$$SA^2 \text{ innerhalb} + SA^2 \text{ zwischen} = SA^2 \text{ insgesamt};$$

Analog ist mit den Freiheitsgraden ($n - 1$) zu verfahren. Dazu müssen die Quadratsummen durch die zugehörige Anzahl von Freiheitsgraden dividiert werden, um die Varianz innerhalb bzw. zwischen den Gruppen zu erhalten. Bei Erfüllung der Nullhypothese muß die Varianz zwischen den Gruppen mit der innerhalb der Gruppen weitgehend übereinstimmen. Im F-Test wird der Quotient aus der Varianz zwischen den Gruppen gebildet. Übersteigt der errechnete Wert für F den Tabellenwert, so wird die Nullhypothese verworfen (80).

2.4.3. Versuchsaufbau

1. Gruppenstärke

Bei den Infektionsmodellen variiert die Zahl der Tiere in den Versuchsgruppen von 5 bis 50.

LINK (45) empfiehlt zur Testung antiviraler Substanzen Gruppenstärken von 10 Mäusen (mindestens 5) pro Dosis; wird nur eine Dosis verwendet, soll diese an 30 Mäusen geprüft werden.

STRUCK (80) schlägt, im Hinblick auf eine statistische Auswertung, eine Tierzahl von mindestens 5 - 6, am besten 16 - 25 vor. Unterscheiden sich zwei Kollektive hinsichtlich eines Ereignisses deutlich voneinander, so genügen kleinere Stichproben und umgekehrt, d.h. die Fragestellung des Versuches ist von Bedeutung.

Sind Versuchs- und Kontrollgruppe gleich gross, kann man mit Hilfe eines Nomogramms (= Zahlenschaubild zum graphischen Rechnen) die erforderliche Tierzahl ermitteln. Dabei ergibt die Verbindungsgerade zwischen Summe und Differenz der zu erwartenden unterschiedlichen Häufigkeiten eines Ereignisses in Prozent die Anzahl von Beobachtungen, die im Durchschnitt ein signifikantes Ergebnis liefern.

Bei einer Signifikanzprüfung nach Abschluss einer Versuchsreihe nimmt man in Kauf, dass mehr Versuche ausgeführt werden als notwendig. Ein Verfahren, das eine kontinuierliche Überprüfung der Versuchszahl bis zum Erreichen eines signifikanten Unterschiedes erlaubt, ist die Sequenzanalyse (80, 7, 6).

In der Praxis muß meist ein Kompromiss zwischen den Forderungen des Statistikers und den technischen Möglichkeiten gefunden werden.

2. Versuchsdauer

Die Dauer eines Infektionsversuches richtet sich, völlig unabhängig von statistischen Erfordernissen, nur nach dem verwendeten Infektionsmodell mit seinen

klinischen, pathologischen und serologischen Kennzeichen. In den vorliegenden Angaben aus der Literatur reicht diese Spanne von 7 Tagen bei einem MKS-Infektionsversuch bis zu 120 Tagen bei einer Implantation von Tumoren.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden 3 Wochen alte, männliche Albinomäuse vom Stamm NMRI aus der Zucht Kisslegg/Allgäu verwendet. Ihr Durchschnittsgewicht betrug 18 bis 20 g. Die Haltung erfolgte in Makrolonkäfigen bei Fütterung von Latz-Mäusefertigbrot und Wasser ad libitum.

3.1.2. Virusmaterial

1. Influenza A 2/Japan

Der Influenzastamm (Passagezahl unbekannt) wurde in der Allantoishöhle 10 Tage alter, bebrüteter Hühnereier vermehrt. Am 3. Tag post infectionem bzw. nach Absterben der Embryonen wurde die Amnion- und Allantoisflüssigkeit geerntet. Eiflüssigkeiten mit einem ausreichenden HA-Titer wurden auf Blutplatten ausgestrichen und bei Freisein von Kontaminationen gepoolt, in 2 ml-Portionen abgefüllt, und bei -65°C gelagert.

Der Infektionstiter betrug nach intranasaler Inokulation in der weissen Maus $10^{4,0}$ LD₅₀/0,05 ml, im bebrüteten Hühnerei $10^{4,3}$ EID₅₀/0,1 ml.

2. Neurovaccine/Haagen

Zur Gewinnung von Impfmateriel wurde die 34. CAM-Passage herangezogen. Die Virusvermehrung fand auf der Chorioallantoismembran 10 bis 12 Tage alter, bebrüteter Hühnereier statt. Nach siebentägiger Inkubation wurden die Membranteile mit typischen Vaccineveränderungen gesammelt, mit Sand verrieben und im Verhältnis 1:10 mit sterilem NaCl-Phosphat-Puffer verdünnt und zentrifugiert. Nach Überprüfung auf Freisein von Fremdviiren und bakteriellen Verunreinigungen wurde der Überstand in Mengen von jeweils 2 ml bei -25°C aufbewahrt.

Die intracerebrale Titration in 3 Wochen alten Albinomäusen erbrachte $10^{4,5}$ LD₅₀/0,05 ml.

3. Columbia SK/Jungblut

Die Vermehrung dieses Virus erfolgte, nach einer unbekannten Anzahl von Kulturpassagen, in den Gehirnen ca. 3-wöchiger Albinomäuse nach peroraler Applikation. Das in den entsprechenden Versuchen verwendete Infektionsmaterial lag als sterile 10-%-ige Gehirnsuspension vor und zeigte eine Infektiosität von $10^{2,5} \text{LD}_{50} / 0,25 \text{ ml}$ (Maus, peroral); konserviert wurde es bei -65°C .

3.1.3. Testsubstanzen

Die untersuchten Präparate waren teils biologischer Natur, teils synthetische Produkte.

1. Biologische Testsubstanzen

Arnika Extrakte (Herstellung nach HERLYN (33))

- a) Arnika 1: 1 %-iger Alkohol-Extrakt, Gebrauchslösung: 1:500 verdünnt,
- b) Arnika 2: 10 %-iger CHCl_3 -Extrakt, Gebrauchslösung: 1:50 verdünnt,
- c) Arnika 3: 10-%-iger CHCl_3 -Extrakt, Gebrauchslösung: unverdünnt
- d) Kombinationspräparat aus gleichen Teilen Arnika 3, Dextran T 250 (50 mg/0,3 ml), Bromelinlösung (0,25 mg/0,3 ml).

Aristolochia-Präparate

- a) Aristolochiasäurelösung: in 100 ml einer sterilen Lösung aus: 0,8 g NaCl
0,02 g $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$
0,01 g KCl
0,01 g NaHCO_3
ad 100 ml aqua pro injectionem
pH 8,5

wurde 1 ml Aristolochiasäure in Reinsubstanz (Nr. 4573/69) unter Zugabe von 0,08 ml 0,1 n NaOH gelöst.

- b) Tardolyt^R (Fa. Madaus), Gebrauchslösung 1:100 Verdünnt.

Biologische Interferoninducer

Biologische Interferoninducer wurden auf der Basis von avirulentem Virusmaterial hergestellt. Folgende Präparationen kamen zur Anwendung:

- | | |
|----------------------|--|
| a) MVA 547 | wurde aus attenuiertem Vaccinevirus hergestellt |
| b) MVA 505, 506, 507 | |
| c) Galloferon | wurde aus heterologem, avirulentem Avipoxvirus gewonnen. |

2. Synthetische Substanzen

- a) CB 99-Emulsion/ Nr. 73151 (Fa. Nattermann), Gebrauchslösung 1:10 verdünnt
- b) CB 99-Reinsubstanz/Nr. 7345 (Fa. Nattermann), Gebrauchslösung 5 mg/ml
- c) VA 5531/Nr. 026 5531 (ASTA)

Das Verdünnungsmittel zur Bereitung der Gebrauchslösungen war in allen Fällen Aqua bidestillata.

3.1.4. Methodik der Infektionsmodelle

1. Infektion der Versuchstiere

Die Infektionsversuche sind in Gruppen von je 30 Mäusen durchgeführt worden. Dabei wurde darauf geachtet, dass alle Tiere aus einer Sendung und möglichst einheitlich in Alter und Gewicht waren.

Die Influenza-Infektion erfolgte unter leichter Äthernarkose intranasal. Die Impfdosis betrug 0,05 ml.

Das gesamte Virusmaterial wurde zu diesem Zweck 1:1000 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt (= 10 LD₅₀/0,05 ml).

Der Neurovaccine-Stamm wurde intracerebral, ebenfalls unter leichter Äthernarkose, in einem Volumen von 0,05 ml und einer Verdünnung von 1:1000 verabreicht (= 10^{1,5} LD₅₀/0,05 ml).

Die Inokulation des Columbia SK-Materials erfolgte oral mit 0,25 ml einer 1:50 Verdünnung in 0,9 %-iger NaCl ($= 10^2 \text{ LD}_{50}/0,25 \text{ ml}$). Bei allen Infektionen betrug die Beobachtungszeit mindestens 14 Tage.

2. Applikation der Testsubstanzen

Je nach Art und vermuteten Wirkungsmechanismen der Testsubstanzen sind verschiedene Applikationsmethoden verwendet worden. Dabei wurden die Applikationsarten, sowie der zeitliche Abstand zwischen den einzelnen Substanzverabreichungen und vor Infektion variiert.

Der Applikationsmodus wurde dabei so gewählt, dass eine möglichst rasche und frühzeitige Wirkung auf den Infektionsverlauf ermöglicht wurde. So sind zum Beispiel oral infizierte Mäuse auch oral, nasal infizierte Mäuse auch nasal behandelt worden.

Daneben sind Präparate, bei denen eine allgemeine Wirksamkeit zu erwarten war, auch parenteral, in der Regel im Wechsel subcutan und intraperitoneal, appliziert worden. Die Dosierung der Testsubstanzen richtete sich nach der Art der Applikation.

Folgende Dosierungen wurden verwendet:

subcutan	0,3 ml
intraperitoneal	0,3 ml
oral	0,25 ml
intranasal	0,05 ml
intracerebral	0,05 ml.

Die Zahl und der zeitliche Abstand der Applikationen, wie auch der Zeitpunkt der Infektion ist aus den Tabellen 5 bis 7 ersichtlich.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Ausarbeitung der Infektionsmodelle (Tabelle 4, Abbildung 1 - 3)

1. Influenza A 2/Japan

Die intranasale Applikation des Influenza-Virus in einer konstanten Konzentration war stark von der Nasosetiefe und den sich daraus ergebenden Abwehrbewegungen beim Einatmen des infektiösen Materials abhängig. Damit lassen sich zum Teil die zwischen 40 und 80 % schwankenden Mortalitätsraten erklären.

Der Verlauf der Influenzainfektionen wurde nach unseren Beobachtungen aber auch sehr stark durch äussere Einflüsse, vor allem durch das Wetter (Föhn, Regen usw.), beeinflusst. Der mittlere Todestag war demgegenüber relativ konstant, er betrug im Durchschnitt 6,9.

Die Infektionsdosis war in Vorversuchen auf 10 LD_{50} festgelegt worden, weil dabei der Infektionsverlauf ausreichend protrahiert war, um auch durch weniger stark wirksame Testsubstanzen beeinflusst werden zu können. Dabei traten Todesfälle vom 3. bzw. 4. Tag post infectionem bis zum 8. bzw. 12. Tag auf (Tabelle 4, Abbildung 1).

2. Neurovaccine/Haagen

Bei einer Infektionsdosis von $10^{1,5} \text{ LD}_{50}$ intracerebral appliziert, betrug die Mortalität konstant 100 %. Die Tiere starben vom 3. bis zum 7. bzw. 9. Tag post infectionem bei einem durchschnittlichen mittleren Todestag von 5,7. Dieses Modell stellt durch seinen relativ stürmischen, auf das Gehirn beschränkten Verlauf eine besonders harte Prüfung für die Testsubstanz dar (Tabelle 4, Abbildung 2).

3. Columbia SK

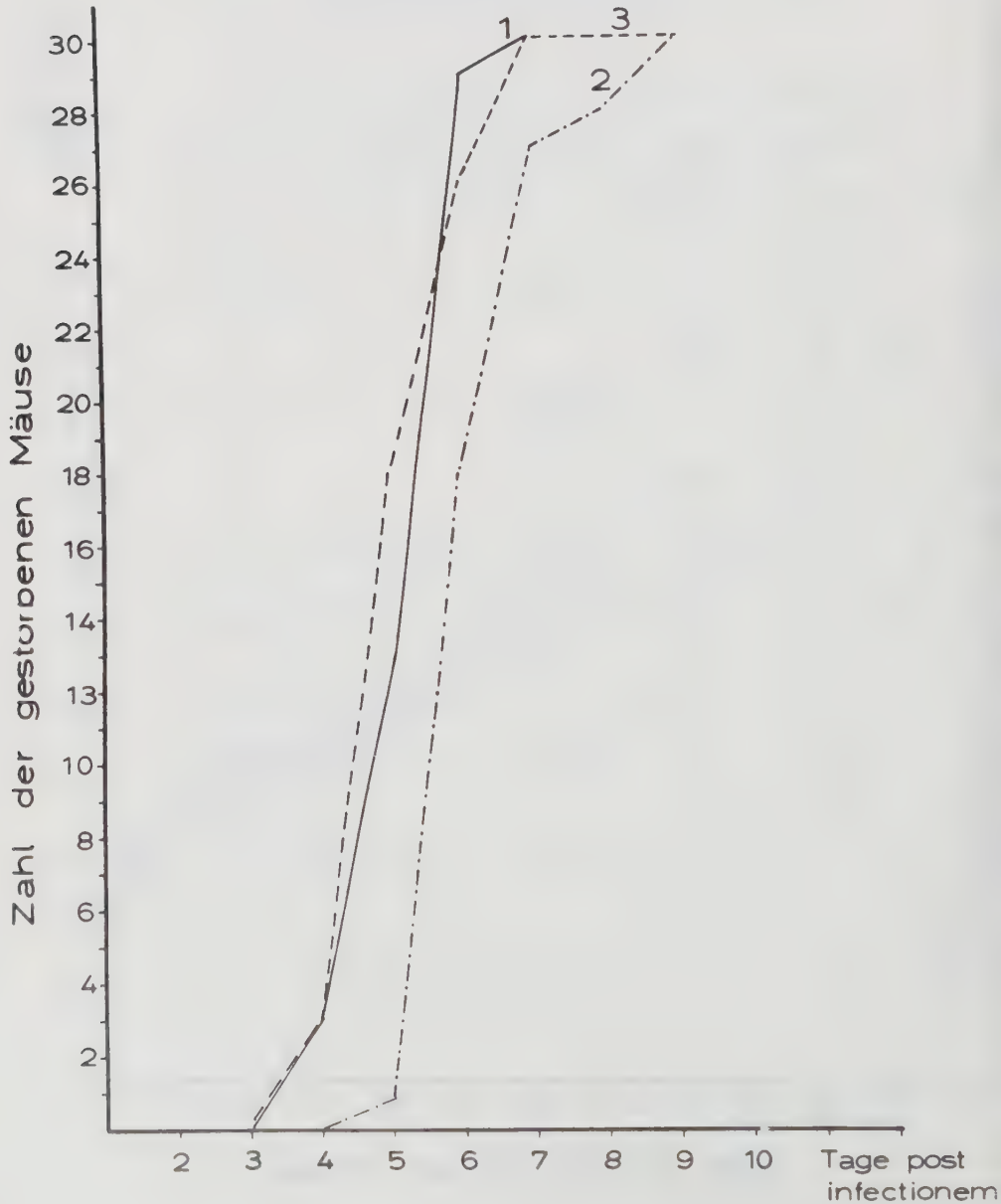
Eine Eigenheit des verwendeten Columbia SK-Stammes "Jungblut" ist die orale Applikationsmöglichkeit. Da der Ort der maximalen Virusvermehrung aber das Gehirn ist, sind trotz hoher Infektionsdosis nur relativ geringe Mortalitätsraten und ein langgezogener Infektionsverlauf zu beobachten, was sich in Mortalitätsschwankungen von 53 - 77 % und Todesfällen vom 5. bis 10. bzw. 12. Tag post infectionem äussert. Der Durchschnittswert für den mittleren Todestag lag bei 6,9 (Tabelle 4, Abbildung 3).

TABELLE 4: Überblick über die Schwankungsbreiten der verwendeten Infektionsmodelle

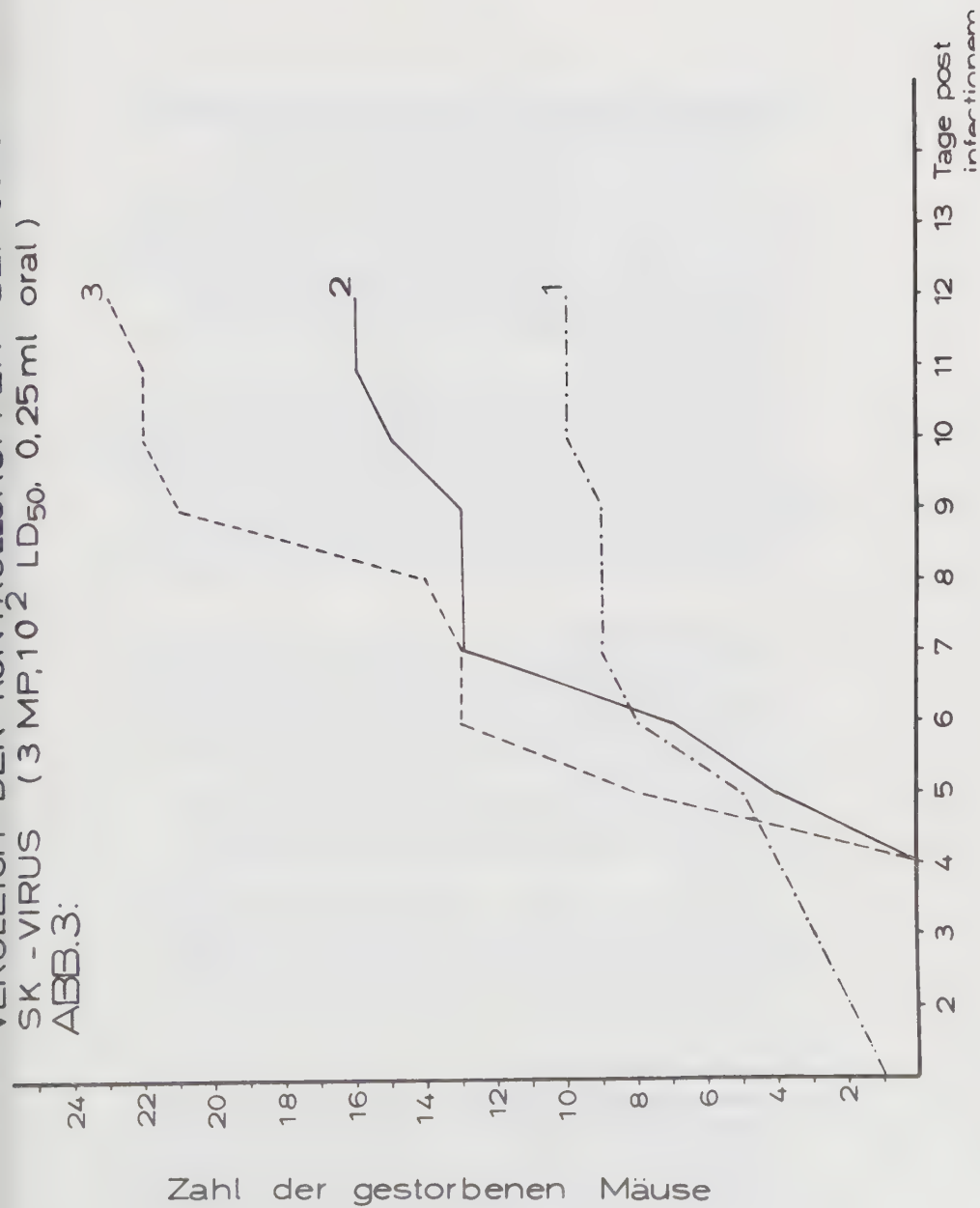
Virusart	Applika- tion	Infektions- dosis	mittl. Todes- tag	Mortali- tät
Influenza	i.nas.	10 LD ₅₀ /	6,6	80 %
A 2/Japan		0.05 ml	6,9	50 %
			6,8	47 %
			6,8	53 %
			6,9	67 %
			7,2	40 %
			7,5	43 %
			6,9	70 %
			6,3	77 %
Neurovaccine i.cer.		10 1,5 LD ₅₀	5,6	100 %
Haagen		/0,05 ml	5,4	100 %
			6,5	100 %
Columbia SK	oral	10 ² LD ₅₀ /	7,0	60 %
		0,25 ml	6,9	53 %
			6,7	77 %

VERGLEICH DER KONTROLLGRUPPEN BEI
NEUROVACCINE-VIRUS ($34. \text{CAM}, 10^{1,5} \text{ LD}_{50}, 0,05 \text{ ml i.cer.}$)

ABB.2:



VERGLEICH DER MORBIDITÄT
SK - VIRUS (3 MP, 10^{-2} LD₅₀, 0.25 ml oral)
ABB.3:



3.2.2. Prüfung der Wirksamkeit von Testpräparaten unter Verwendung der ausgearbeiteten Infektionsmodelle

Die erarbeiteten Infektionsmodelle sind nun zur Testung sehr unterschiedlicher Präparationen und Substanzen; von denen eine antivirale oder resistenzerhöhende Wirkung erwartet wurde, eingesetzt worden. Die gewonnenen Ergebnisse waren entsprechend vielgestaltig, ließen aber trotzdem Aussagen über die Wirksamkeit der betreffenden Präparate zu.

In den Tabellen 5 - 7 sind die Resultate, geordnet nach der Art der verwendeten Infektionsmodelle, zusammengestellt. Die Ergebnisse der Infektionsversuche, bei denen eine gewisse Beeinflussung des Infektionsverlaufes durch die Verabreichung einer bestimmten Testsubstanz beobachtet wurde, sind statistisch weiter ausgewertet worden. Eine Zusammenstellung dieser Daten bringt die Tabelle 8.

1. Arnika-Extrakte

Eine positive Wirkung in Form einer über 20 %-igen, allerdings nicht signifikanten, Senkung der Mortalität zeigte sich nur bei Arnika 1 nach intranasaler Behandlung einen bzw. zwei Tage vor der Infektion mit Influenza-Virus.

Bei der Neurovaccine-Infektion konnte keine Beeinflussung des Infektionsverlaufes festgestellt werden.

Im Columbia SK-Modell trat nur bei extrem schwacher Infektionsdosis eine Mortalitätserniedrigung um 17 % auf, sowohl bei oraler als auch bei parenteraler Applikation vor der Infektion ($p > 0,05$).

2. Aristolochia-Präparate

Bei Aristolochia-Präparaten trat im Columbia-SK-Modell eine 20 %-ige Verminderung der Mortalität bei einer Gruppenstärke von je 10 Mäusen in Versuchs- und Kontrollgruppe auf. Eine geringfügige Verlänge-

nung der mittleren Todeszeit fiel bei Influenza (von 6,8 auf 7,3) nach parenteraler Verabreichung, bei Columbia SK (von 7,0 auf 7,9) nach mehrtägiger oraler Behandlung auf ($p > 0,05$)

3. Biologische Interferoninducer

MVA bewirkt positive Veränderungen weder bezüglich der Mortalität noch des mittleren Todestages in den vorhandenen Infektionsmodellen. Lediglich nach parenteraler Applikation im Neurovaccine-Modell war eine 100 %-ige Reduzierung der Mortalität erkennbar. Der Wert dieser Beobachtung wird aber durch die Tatsache, dass es sich bei dem MVA-Präparat um eine Lösung handelte, die Antigenanteile eines Vaccine-Virus enthielt, eingeschränkt. Das heißt, die Wirksamkeit kann in diesem Falle entweder durch Interferenz oder durch bereits vorhandene Immunreaktionen zustandekommen.

Galloferon hingegen erwies sich als hochwirksames Mittel in verschiedenen Infektionsmodellen.

Wurde es am Tag vor der Influenza-Infektion zweimal intranasal eingespritzt, verringerte sich die Mortalität signifikant um 40 % bei gleichzeitiger Verlängerung der mittleren Todeszeit um 1,1 Tage ($p > 0,05$). Bei zweimaliger parenteraler Verabreichung am Tag vor der Infektion verlängerte sich die mittlere Todeszeit signifikant um 1,4 Tage.

Die Mortalität wurde bei kontinuierlicher Anwendung während der Infektion mit Neurovaccine um 67 % gesenkt, der mittlere Todestag um 0,9 hinausgezögert. Beide Werte sind signifikant.

Die Behandlung erfolgte dabei am Tag vor der Infektion zweimal im Abstand von 6 Stunden intracerebral (0.05 ml), am Tag der Infektion sowie an den drei darauffolgenden Tagen wurden nochmals je 0,3 ml intraperitoneal gespritzt.

Bei prophylaktischer Applikation auf oralem Wege am Vortage der Infektion mit Columbia SK-Virus trat eine

signifikante Mortalitätsverminderung um 33 % auf, bei parenteraler Verabreichung um 66 %.

4. Synthetische Präparate

CB 99 reduzierte die Mortalität im Influenza-Modell nach zweimaliger intranasaler Behandlung drei bzw. vier Tage vor der Infektion um 17 % und bewirkte eine Verlängerung der mittleren Todeszeit um 1,6 Tage ($p > 0,05$).

Die Versuche mit Neurovaccine blieben ergebnislos. Bei zweimaliger oraler Applikation am Tag vor der Infektion mit Columbia SK nahm dagegen die Mortalität um 13 % ab und die mittlere Überlebenszeit verlängerte sich um 1,3 Tage ($p > 0,05$). Bei kontinuierlicher parenteraler und/oder oraler Anwendungsweise starben sogar bis zu 57 % weniger Tiere ($p < 0,05$).

VA 5531 war nur im Influenza-Modell wirksam, wo es nach einmaliger oraler Behandlung 2 Stunden post infectionem eine 17 %-ige Mortalitätserniedrigung und eine 1,2 Tage längere mittlere Todeszeit zur Folge hatte ($p > 0,05$).

TABELLE 5: Wirksamkeit der Testsubstanzen im Infektionsmodell "INFLUENZA"

Erläuterungen der Abkürzungen siehe Seite 63
(Positive Ergebnisse sind unterstrichen).

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT Versuch Kontrolle	MITTLERER TODESTAG Versuch Kontrolle
ARNIKA 1 (Versuch 1)	-2, -1, i. nas. -2, -1, s.c.i.p.	<u>18</u> 20	6,8 6,4
ARNIKA 2 (Versuch 2)	-2, -1, i. nas. -4, -3, -2, -1, i.nas. -2, -1, s.c.i.p. -4, -3, -2, -1, s.c.i.p.	22 20 27 15	6,2 7,0 6,2 6,5
ARNIKA 2 (Versuch 3)	-2, -1, i.nas. -4, -3, -2, -1, i. nas. -2, -1, s.c.i.p. -4, -3, -2, -1, s.c.i.p.	21 23 21 14	5,9 6,1 6,5 6,8
ARNIKA 3 (Versuch 4)	-2, -1, s.c.i.p.	15	6,4
ARNIKA 3 (Versuch 5)	-4, -3, i.nas.	11	6,9
		13	7,5

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT		MITTLERER TODESTAG	
		Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
ARISTOLOCHIA (Versuch 1)	-3, -2, -1, i. nas.	19		7,2	
	-3, -2, -1, s.c.i.p.	21		7,3	
			16		6,8
TARDOLYT (Versuch 1) 4	-9, -8, -7, -6, -5, oral	7		7,0	
			7		7,0
MVA 547-1 (Versuch 1)	-2, -1, i. nas.	12		6,8	
	-2, -1, s.c.i.p.	19		6,8	
			12		7,2
	-4, -3, i. nas.	19		5,9	
			13		7,5
MVA 506-2 (Versuch 2)	-4, -3, i. nas.	21		6,3	
			13		7,5
GALLOFERON (Versuch 1)	-4, -3, i. nas.	23		5,5	
	-1, 2 i. nas.	9		8,0	
			21		6,9
GALLOFERON (Versuch 2)	-1, 2 x s.c.i.p.	24		7,7	
			23		6,3

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT		MITTLERER TODESTAG	
		Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
CB 99-E ² (Versuch 1) CB 99-E ³ (Versuch 2) CB 99-R ³ (Versuch 2)	-4, -3, i.nas.	<u>16</u>		<u>8,5</u>	
	-1, 2 x s.c.i.p., 0 +1, +2, +3, s.c.i.p.	21			6,9
	-1, 2 x s.c.i.p., 0 +1, +2, +3, s.c.i.p.	23	23	6,8	6,3
	-1, 2 x i.nas., 0, +1, +2, +3, i.nas.	29 30	23	<u>7,1</u> 5,8	6,3
VA 5531 1 (Versuch 1) VA 5531 (Versuch 2) ⁴ VA 5531 1 (Versuch 3)	+ 2 Std., + 2 ⁴ Std., i.p.	26		6,7	
	+ 2 Std., + 2 ⁴ Std., i.p.	9	20		6,9
	+ 2 Std., oral	<u>16</u>	7	<u>8,1</u>	
			21		6,9

TABELLE 6: Wirksamkeit der Testsubstanzen im Infektionsmodell "NEUROVACCINE"

Erläuterung der Abkürzungen siehe Seite 63
(Positive Ergebnisse sind unterstrichen)

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT Versuch Kontrolle	MITTLERER TODESTAG Versuch Kontrolle
ARNIKA 2 (Versuch 1)	-2, -1, oral -4, -3, -2, -1, oral -2, -1, s.c., i.p. -4, -3, -2, -1, s.c.i.p.	10 8 16 18	9,0 8,3 8,1 7,9
ARNIKA 3 (Versuch 2)	-4, -3, s.c.i.p.	9 30	9,3 5,6
TARDOLYT (Versuch 1)	-4, -3, s.c.i.p.	30	5,8 5,6
MVA 547-1 (Versuch 1)	-4, -3, s.c.i.p.	1	5,6
MVA 507-2 (Versuch 1)	-4, -3, s.c.i.p.	0	5,6

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT		MITTLERER TODESTAG	
		Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
GALLOPERON (Versuch 1)	-1, 2 x s.c.i.p. 0, +1, +2, +3, s.c.i.p.	29		6,6	
		30	30	6,5	6,5
GALLOPERON (Versuch 2)	-1, i.cer., 0, +1, +2, +3, i.p.	<u>10</u>	30	<u>6,3</u>	5,4
CB 99-E ¹ (Versuch 1)	-1, 2 x s.c.i.p. 0, +1, +2, +3, s.c.i.p.	30		6,3	
		30	30	7,1	6,5
	-1, i.cer., 0, +1, +2, +3, i.p.	30	30	5,9	5,4
		30	30	5,5	5,4
VA 5531 2 (Versuch 1)	+2 Std., oral	30	30	5,8	5,6

TABELLE 7: Wirksamkeit der Testsubstanzen im Infektionsmodell "COLUMBIA SK"

Erläuterung der Abkürzungen siehe Seite 63
(Positive Ergebnisse sind unterstrichen)

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT Versuch Kontrolle	MITTLERER TODESTAG Versuch Kontrolle
ARNIKA 2 (Versuch 1) ⁵	-2, -1, oral -4, -3, -2, -1, oral -2, -1, s.c.i.p. -4, -3, -2, -1, s.c.i.p.	11 <u>2</u> 1 <u>1</u>	<u>9,0</u>
ARNIKA 3 (Versuch 2)	-4, -3, oral	6 12 10	5,3 6,6 6,7
TARDOLYT (Versuch 1) ⁴	-9, -8, -7, -6, -5, oral -5, -4, -3, -2, -1, oral -1, i.p.	<u>4</u> 7 8	<u>7,8</u> <u>7,9</u> 6,6 7,0
MVA 547-1 (Versuch 1)	-4, -3, oral	13 10	6,9 6,7

SUBSTANZ	APPLIKATION ¹	MORTALITÄT		MITTLERER TODESTAG	
		Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle
GALLOFERON (Versuch 1)	-1, 2 x oral	$\frac{6}{-}$	16	6,0	6,9
GALLOFERON (Versuch 2)	-1, 2 x s.c.i.p.	$\frac{2}{-}$	23	6,0	6,7
CB 99-E ² (Versuch 1)	-4, -3, oral -1, 2 x oral	$\frac{17}{12}$	16	$\frac{6,6}{8,2}$	6,9
CB 99-E ² (Versuch 2)	-1, 2 x s.c.i.p., 0 +1, +2 +3, s.c.i.p. -1, 2 x oral, 0, +1, +2, +3, oral	$\frac{8}{7}$	23	$\frac{6,5}{5,7}$	6,7
CB 99-R ³ (Versuch 2)	-1, 2 x s.c.i.p. 0, +1, +2, +3 s.c.i.p. -1, 2 x oral, 0, +1, +2, +3, oral	$\frac{6}{8}$	23	$\frac{6,8}{5,5}$	6,7
MVA 504-2 (Versuch 1)	-4, -3, oral	$\frac{17}{-}$	10	6,3	6,7

ERLÄUTERUNGEN

- 1 = + 1, +2 usw.: Behandlung an Tagen nach der Infektion
 -1, - 2 usw.: Behandlung an Tagen vor der Infektion
 2 = E Emulsion
 3 = R Reinsubstanz
 4 = 10 Mäuse pro Gruppe
 5 = zu niedrige Infektionsdosis

TABELLE 8: Statistische Auswertung von Infektionsversuchen mit Präparaten, bei denen ein Einfluß auf das Infektionsgeschehen beobachtet wurde +

TESTSUBSTANZEN	APPLIKATION	DIFFERENZ der mittl. Todes- zeiten (m.Tt-V ₁ - m.Tt-K ₂)	t-TEST (p ₅)	MORTALITÄTS- DIFFERENZ % (%MK ₃ -%MV ₄)	CHI-QUADRAT- TEST (p ₅)	INFEKTIONS- MODELL
ARNIKA	i.nas.			20 %	p > 0,05	Influenza
	oral, s.c.i.p.			17 %	p > 0,05	Columbia SK
ARISTOLOCHIA	oral	0,8		20 %	p > 0,05	Columbia SK
NVA	s.c.i.p.			100 %	p < 0,05	Neurovaccine
GALLOFERON	i.nas.	1,1	p > 0,05	40 %	p < 0,05	Influenza
	s.c.i.p.	1,4	p < 0,05			
	i.c.i.p.	0,9	p < 0,05	67 %	p < 0,05	Neurovaccine
	oral			33 %	p < 0,05	Columbia SK
	s.c.i.p.			66 %	p < 0,05	
CB 99-Emulsion -Reinsub- stanz	i.nas.	1,6	p > 0,05	17 %	p > 0,05	Influenza
	s.c.i.p.	0,3	p > 0,05			
-Emulsion -Emulsion	oral (2 x)	1,3	p > 0,05	13 %	p > 0,05	Columbia SK
	s.c.i.p.			50 %	p < 0,05	

TESTSUBSTANZEN	APPLIKATION	DIFFERENZ der mittl. Todes- zeiten (m.Tt-V ₁ - m.Tt-K ₂)	t-TEST (p ₅)	MORTALITÄTS- DIFFERENZ % (%MK ₃ - %MV ₄)	CHI-QUADRAT- TEST (p ₅)	INFEKTIONS- MODELL
CB 99-Reinsub- stanz -Emulsion -Reinsub- stanz	oral oral (6 x) s.c.i.p.			50 % 53 % 57 %	$p < 0.05$ $p < 0.05$ $p < 0.05$	Columbia SK
VA 5531	oral	1, 2		17 %	$p > 0.05$	Influenza

- 65 -

ERLÄUTERUNGEN

- 1 = mittlerer Todestag in der Versuchsgruppe
- 2 = mittlerer Todestag in der Kontrollgruppe
- 3 = Mortalität in der Kontrollgruppe
- 4 = Mortalität in der Versuchsgruppe
- 5 = Irrtumswahrscheinlichkeit
- + = Versuchsansätze mit statistisch gesicherten, signifikanten Abweichungen sind unterstrichen

4. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Bei der Erarbeitung der Infektionsmodelle mußten folgende Forderungen beachtet werden:

1. Das verwendete Virus sollte für die erwachsene Maus pathogen sein, da hierdurch die Einheitlichkeit der Tiergruppe gewährleistet ist. Babymäuse sind zwar viel empfindlicher gegen Virusinfektionen, aber die Größe und Qualität der einzelnen Würfe variiert stark. Ausserdem ist es technisch relativ schwierig, stets eine genügend große Anzahl gleich alter Würfe für Infektionsversuche zur Verfügung zu haben.
2. Verschiedene Pathogeneseformen von Virusinfektionen sollten vertreten sein, um den Testsubstanzen möglichst vielfältige Angriffspunkte auf das Infektions- und Krankheitsgeschehen zu bieten. Deswegen wurde auch auf unterschiedliche Inokulationsformen Wert gelegt. Bei gleichartiger Substanzapplikation konnte damit schon ein sehr frühes Eingreifen in den Infektionsverlauf erfaßt werden.
3. Der Infektionsmodus sollte technisch einfach sein und trotzdem ein sicheres Angehen der Infektion gewährleisten.
4. Die experimentelle Infektion sollte tödlich enden. Dadurch ergab sich ein eindeutiger und technisch nicht aufwendiger Wirkungsmaßstab.

Unter diesen Voraussetzungen wurde die Zahl der in Frage kommenden Virusarten stark eingeschränkt auf:

<u>Influenzavirus</u>	mit Manifestation im Respirationstrakt bei intranasaler Infektion,
<u>Neurovaccine</u>	mit Manifestation im Zentralnervensystem bei intracerebraler Inokulation,

Columbia SK-Virus mit Manifestation im Zentralnervensystem bei oraler Verabreichung.

Ein viertes Infektionsmodell, die cutane Infektion mit Herpes simplex-Virus, wurde wieder verworfen, da die Angangsrate, die auch in der Literatur als zwischen 50 und 75 % angegeben ist, zu starken Schwankungen unterlag (59).

Die Influenza-Infektion der weissen Maus erwies sich in zahlreichen Versuchen als ein sehr nützliches Infektionsmodell, obwohl es, technisch gesehen, einige Schwierigkeiten bereiten kann. So können Schwankungen in der Mortalität infizierter Tiere durch die Applikation und die Empfindlichkeit des Modells gegenüber Umwelteinflüssen beobachtet werden. Die intranasale Inoculation der Virussuspension in die Nasenlöcher am narkotisierten Tier läßt einen Teil des Materials auch in den Digestionstrakt geraten, d. h. eine genaue Dosierung ist nicht möglich. Ausserdem beeinflussen sinkende Aussentemperaturen, Luftdruckschwankungen und andere wetterbedingte Störungen die Überlebensrate der Versuchstiere negativ.

Die Unregelmäßigkeiten können aber durch die Größe der Versuchsgruppen und die stets parallel laufenden Kontrollgruppen ausgeglichen werden; dadurch war es möglich, mit diesem Infektionsmodell regelmäßig verwertbare Ergebnisse zu erhalten.

Das Neurovaccine Modell bringt bei korrekter intracerebraler Infektion der mit Äther narkotisierten Maus sehr gut reproduzierbare Resultate. Allerdings stellt die hohe Mortalitätsrate und der stürmische Infektionsverlauf bei diesem Modell besonders harte Anforderungen an die Wirkung einer Testsubstanz.

Relativ unproblematisch ist das Infektionsmodell Columbia SK in der weissen Maus, da sowohl der Infektionsmodus als auch der Verlauf der Erkrankung unempfindlich gegenüber äusseren Störfaktoren sind.

Beim Columbia SK-Modell wird das Infektionsmaterial mit Hilfe einer gebogenen stumpfen Kanüle im Schlund deponiert. Es wird bei fachgerechter Applikation auch nicht erbrochen. Dieses Modell zeichnet sich durch nicht so hohe Mortalität bei längerem Krankheitsverlauf aus. Günstig ist auch, dass bei der angewandten Applikationsform auf eine Narkose verzichtet werden kann.

Eine Beeinflussung der Infektion ist durch die unterschiedliche Magenfüllung bei ad libitum Fütterung der Versuchstiere feststellbar. Eintägiges Fasten könnte diese Variationen zum Teil beseitigen, würde allerdings die Tiere auch unnötig belasten und könnte dadurch zum Beispiel die Wirkung einer zuvor verabreichten Testsubstanz verfälschen.

Die drei beschriebenen Infektionsmodelle gestatten eine relativ umfassende Austestung einer Testsubstanz. Sie repräsentieren zwar nur einen kleinen Ausschnitt aus der Fülle der pathogenetischen Verlaufsformen von Virusinfektionen, sind aber doch untereinander so verschieden bezüglich Infektionsmodus, Manifestation, Krankheitsverlauf und Mortalitätsrate, dass ein Vergleich der Ergebnisse aus diesen Infektionsversuchen durchaus eine Aussage über die antivirale Wirksamkeit eines Präparates erlaubt.

Da der Mäuseschutzversuch nur die Wirkung einer Substanz aufzeigt, erlaubt er meist nur Vermutungen über die zugrunde liegenden Ursachen dieser Wirkung bzw. deren Ablauf.

Die beiden Pflanzenextrakte aus Arnika und Aristolochia sind in den verwendeten Virus-Infektionsmodellen nur sehr schwach wirksam, verringern aber, wie aus der Literatur bekannt ist, die Mortalität bei bakteriellen Infektionen aufgrund einer allgemeinen Resistenzsteigerung (28).

Es ist deshalb anzunehmen, dass die gleichen Mechanismen mit für die geringfügigen Veränderungen im Ablauf der Virusinfektionen eine Rolle spielen.

Die positive Wirkung der Viruspräparationen dürfte vor allem durch die Induktion der Interferonsynthese zustandekommen. Bei dem MVA-Präparat spielen daneben wahrscheinlich Immunreaktionen und Interferenz eine Rolle, da diese Substanz attenuiertes Vaccinevirus enthält und nur bei der Infektion mit Neurovaccinevirus eine Mortalitätsverringerng um nahezu 100 % bewirkte.

Dagegen reduzierte das aus einem avirulenten Avipoxvirus hergestellte Galloferon die Mortalität in allen drei Infektionsmodellen signifikant. Ausserdem verzögerte es den Krankheitsverlauf bei Influenza und Neurovaccine. Die prophylaktische Substanzapplikation erfolgte dabei auf dem Infektionsweg (intracerebral) und wurde bei der Neurovaccine parenteral weitergeführt. Bei Columbia SK zeigte eine kontinuierliche parenterale Applikation über den Infektionszeitpunkt hinaus die größte Wirkung. Auch diese Beobachtung spricht dafür, dass die antivirale Wirksamkeit mit durch die Stimulierung der Interferonsynthese zustandekommt.

CB 99, eine synthetische Substanz, verlangsamt den Infektionsverlauf bei Influenza und Neurovaccine und erhöht, kontinuierlich angewendet, signifikant die Überlebensrate bei Columbia SK.

VA 5531 erzeugt, oral 2 Stunden post infectionem aufgenommen, eine geringe Senkung des Todesrate und eine Verzögerung des mittleren Todestages. Ob diese beiden Substanzen durch direktes Eingreifen in Stadien der Virusreplikation oder durch Stimulierung von Resistenzmechanismen oder Interferon im Wirtsorganismus wirken, kann nach den durch Infektionsversuche gewonnenen Daten nicht entschieden werden.

Von den Wirkungsparametern erwies sich die Mortalität in % als die hinsichtlich ihrer statistischen Auswertbarkeit geeignetere Größe, da sie die Gesamtgruppenstärke von 30 Tieren erfaßt und diese in den Chi-Quadrat-Test eingeht.

Bei der Rechnung des mittleren Todestages wurden nur die verstorbenen Tiere der Gruppe verwendet; einige Autoren umgehen dieses Problem, indem sie bei Infektionsversuchen zur Errechnung der mittleren Überlebenszeit das Ende der Beobachtungszeit als Todestag der Überlebenden einbeziehen. Dieser Kunstgriff ermöglicht eine statistische Beurteilung im t-Test unter voller Ausnützung des Gruppenumfangs. Der errechnete Wert repräsentiert aber dann nicht mehr die wirkliche durchschnittliche Überlebens- oder Todeszeit des infizierten Tierkollektivs.

Die vorliegenden Ergebnisse verdeutlichen, dass es durchaus möglich ist, mit einem relativ geringen Aufwand an Tiermaterial, Zeit, und technischem Können eine Substanz unter sehr unterschiedlichen pathogenetischen Bedingungen auf ihre Wirksamkeit gegenüber Virusinfektionen in der Maus zu testen.

5.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Literaturteil wird ein Überblick über Infektionsmodelle gegeben, die zur Testung antiviraler Substanzen in der weissen Maus Anwendung finden. Auf Bewertungskriterien und statistische Analyse der Ergebnisse wird eingegangen.

Im experimentellen Teil wurden als Infektionsmodelle die intranasale Influenzavirusinfektion, die intracerebrale Neurovaccine-Infektion und die orale Columbia-SK-Infektion verwendet.

Die Eignung obiger Infektionsmodelle für die Testung antiviraler Substanzen wurde mit folgenden Präparaten überprüft: Arnika, Aristolochia, MVA, Galloferon (biologische Substanzen); CB 99, VA 5531 (synthetische Substanzen).

Eine signifikante Reduktion der Mortalität bewirkte Galloferon in allen Infektionsmodellen, während CB 99 die Todesrate nur bei Columbia SK signifikant senkte. Eine signifikante Verlängerung des mittleren Todestages trat nach parenteraler Applikation von Galloferon bei der Influenza und Neurovaccineinfektion auf. CB 99 verlängerte den mittleren Todestag in keinem Infektionsmodell signifikant.

MVA hob die 100 %-ige Mortalität durch Immunreaktionen im Neurovaccineinfektionsversuch völlig auf.

Arnika, Aristolochia und VA 5531 zeigten nur geringe, nicht signifikante Verringerungen der Mortalität.

5. SUMMARY

Viral infection models and some evaluation tests are discussed with respect to studies of antiviral agents in white mice.

In the presented study Influenza virus, Neurovaccine virus and Columbia SK virus have been applicated to investigate antiviral properties of Arnika, Aristolochia, MVA, Galloferon-biological substances- and CB 99, VA 5531-synthetic substances-.

Whereas Galloferon resulted in a significant decrease of mortality in every viral infectious model, CB 99 reduced the mortality only in the Columbia SK model significantly. The mean day of death increased in the Influenza and Neurovaccinevirus infection after application of Galloferon. Cb 99 did not extend the mean day of death.

The 100 percent mortality of Neurovaccine virus was compensated by the immunological reactions of MVA. Arnika, Aristolochia and VA 5531 caused only a small reduction of the mortality rate ($p > 0,05$).

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 AKERS, T.G. and B.D. STIRLING, 1968:
Statolon induced resistance of mice to lethal aerosols
of Columbia SK virus.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 128, 931
- 2 BEALE, A.J., 1970:
Progress towards trials of human interferon in man.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 770
- 3 BENETTE, J.G., BUSH, P.V. and R.B. STEELE, 1967:
Characteristic of a newborn runt disease by a neonatal
infection with an oncolytic strain of Reo virus type 3.
I. Pathological investigations in rats and mice.
Brit.J.Exp.Path. 48, 251
- 4 BILLIAU, A., MUYEMBE, J.J. and P. DeSOMER, 1971:
Effect of chlorite oxidized oxyamylose on Influenza
virus infection in mice.
Appl.Microbiol. 21/4, 580
- 5 BRADISH, C.J., ALLNER, K. and H.B. MABER, 1971:
The virulence of original and derived strains of
Semliki Forest virus for mice, guinea pigs and
rabbits.
J.Gen. Virol. 12, 141
- 6 CAMPBELL, C.:
Statistische Methoden für Biologie und Medizin.
G. Tieme Verlag, Stuttgart, 1971

- 7 CAVALLI-SFORZA, L.:
Biometrie. Grundzüge biologisch-medizinischer
Statistik.
G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1969
- 8 CHANG, P.W. and G.D. HSIUNG, 1965:
Experimental infection of Parainfluenza type 5 in mice,
hamsters and monkeys.
J.Immun. 95, 591
- 9 CUTTING, W., FURUSAWA, E. and Y.K. WOO, 1965:
Antiviral activity of herbs on Columbia SK in mice
and LCM, Vaccinia and Adeno type 12 viruses in vitro.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 120, 330
- 10 DAHL, H. and M. DEGRE, 1972:
Preventive effect of a nonviral interferon inducer,
a bacterial vaccine, on experimental Influenza in
mice.
Acta Path.Microbiol.Scand. B, 80, 167
- 11 DAVIES, W.L., GRUNERT, R.R., HAFF, R.F., MCGAHEN, J.W.,
NEUMAYER, E.M., PAULSHOCK, M., WATTS, J.C., WOOD, T.R.,
HERMAN, E.C. and C.E. HOFFMANN, 1964:
Antiviral activity of 1-adamantanamine (Amantadine).
Science 144, 862
- 12 DeCLERQ, E. and P. DeSOMER, 1969:
Prolonged antiviral protection by interferon inducers.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 132, 699

- 13 DIANZANI, F., RITA, G., CANTAGALLI, P. and
S. GAGNONI, 1969:
Effect of DEAE-dextran on interferon production and
protective effect in mice treated with the double-
stranded polynucleotide complex polyinosinic-poly-
cytidilic acid.
J.Immun. 102, 24
- 14 EGGERS, H.J., NEUFAHRT, A. und H. ROLLY, 1972:
Isoprinosin: Überprüfung seiner virushemmenden
Wirkung in vitro und in vivo.
Dtsch.Med.Wschr. 97, 1156
- 15 ENGLE, C.G., FRANKEL, J.W. and J. GELZER, 1970:
Quantitative assessment of virus inhibition by
indirect techniques in vivo.
Ann.N.Y.Acad. Sci. 173, 139
- 16 FENNER, F., McANSLAN, B.R., MIMS, C.A., SAMBROOK, J.
and D.O. WHITE:
The biology of animal viruses, 2. Ed.
Academic press, New York-London, 1974
- 17 FINTER, N.B. 1964:
Interferon as an antiviral agent in vivo. Quantitative
and temporal aspects of the protection of mice against
Semliki Forest virus.
Brit.J.Exp.Path. 47, 361
- 18 FINTER, N.B., 1970:
Methodes for screening in vitro and in vivo for
agents active against Myxoviruses.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 131

- 19 FREI, W.:
Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende
der Tiermedizin, 6. Auflage.
P. Parey Verlag, Berlin u. Hamburg, 1972
- 20 FURUSAWA, E. and W. CUTTING, 1966:
Antiviral activity of higher plants on LCM infection
in vitro and in vivo.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 122, 280
- 21 FURUSAWA, E., RAMANATHAN, S., FURUSAWA, S., WOO, J.K.
and W. CUTTING, 1967:
Antiviral activity of higher plants and Propionin on
LCM infection.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 125, 234
- 22 FURUSAWA, E. and W. CUTTING, 1970:
The higher plants with antiviral and antilethal
activity on virus infections in mice.
Ann. N.Y.Acad.Sci. 173, 668
- 23 FURUSAWA, E., RAMANATHAN, S., FURUSAWA, S. and
W. CUTTING, 1971:
Antiviral activity of tobacco leaf on Encephalo-
myocarditis virus infection.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 138, 790
- 24 GLASGOW, L.A. and G.J. GALANO, 1972:
Isoprinosine: lack of antiviral activity in
experimental model infections.
J.Infect.Dis. 126, 162
- 25 GRESSER, J., BOURALI, C., THOMAS, M.T. and
E. FALCOFF, 1968:
Effect of repeated inoculation of interferon preparations
on infection of mice with Encephalomyocarditis
virus (32723).
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 127, 451

- 26 GRESSER, J., FONTAINE-BROUTY-BOYE, D., BOURALI, C.
and M.T. THOMAS, 1969:
A comparison of the efficacy of endogenous, exogenous
and combined endogenous-exogenous interferon in the
treatment of mice infected with Encephalomyocardi-
tis virus.
Proc. Soc.Exp.Biol.Med. 130, 236
- 27 GRAY, G.D., NICHOL, F.R., MICKELSON, M.M. et al, 1972:
**Immunosuppressive, antiviral and antitumor activities
of cytarabine derivatives.**
ref. in: Exc.Med. 3/1, 31
- 28 GROSSGEBAUER, K., RAETTIG, H., LANGMARCK, H. and
K. KÜCHLER, 1969:
Zur unspezifischen Schutzwirkung von Lysozym und
Aristolochiasäure bei bakteriellen und viralen Infektionen.
Arch.ges.Virusforsch. 28, 401
- 29 GRUNBERG, E. and H.N. PRINCE, 1968:
The antiviral activity of 3,4-dihydro-1-isoquinoline-
acetamide hydrochloride in vitro, in ovo and in
small laboratory animals.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 129, 422
- 30 GRUNBERG, E. and H.N. PRINCE, 1970:
Experimental methodology and the search for
effective antiviral agents.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 172, 122
- 31 HAAHR, S., 1971:
The influence of Poly I:C on the course of infection
in mice inoculated with West Nile virus.
Arch.ges.Virusforsch. 35, 1

- 38 KLEINSCHMIDT, W.J., 1970:
In vitro and in vivo studies with Statolon against
Influenza virus.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 547
- 39 KRUEGER, R.F., MAYER, G.D., YOSHIMURA, S. and
K.A. LUDWIG, 1970:
In vivo evaluations of tilorone hydrochloride
against Semliki Forest virus.
Antimicrob.Agents Chemother. 1, 486
- 40 KUNZ, CH. and H. HOFMANN, 1969:
Die Beeinflussung der experimentellen Frühsommer-
Meningo-Encephalitis (FSME)-Virusinfektion durch
die Interferoninduzierende Substanz Poly I:C.
Zbl.Bakt.Orig. 211, 270
- 41 LAMPSON, G.P., TYTELL, A.A., FIELD, A.K., NEMES, M.M.
and M.R. HILLEMANN, 1967:
Inducers of interferon and host resistance. I. Double-
stranded RNA from extracts of penicillium funiculosum.
Proc.U.S.Nat.Acad.Sci. 58, 782
- 42 LAMPSON, G.P., TYTELL, A.A., FIELD, A.K., NEMES, M.M.
and M.R. HILLEMANN, 1969:
Influence of polyamines on induction of interferon
and resistance to viruses by synthetic polynucleotides
(34182).
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 132, 212
- 43 LEONARD, B.J., ECCLESTON, E. and D. JONES, 1969:
Toxicity of interferon inducers of the doublestranded
RNA type.
Nature 224, 1023

- 32 HAMILTON, L.D., BABCOCK, V.J. and C.M. SOUTHAM, 1969:
Inhibition of Herpes simplex virus by synthetic
doublestranded RNA (polyriboadenylic and poly-
ribouridylic acids and polyriboinosinic and poly-
ribocytidilic acids).
Proc.Nat.Acad.Sci. USA 64, 878
- 33 HERLYN, M.:
Die medikamentelle Steigerung der unspezifischen
Resistenz.
Vet.Med.Diss., München, 1972
- 34 JANIS, B. and K. HABEL, 1972:
Rabies in rabbits and mice: protective effect of
polyriboinosinic polyribocytidilic acid.
J.Infect.Dis. 125, 345
- 35 JENTSCH, K.D., 1971:
Zur Empfänglichkeit der weißen Mäuse für das Herpes-
virus suis.
Arch.Exp.Vet.Med. 25, 885
- 36 JOSKE, R.A., LEAK, P.J., PAPADIMITRIOU, J.M.,
STANLEY, N.F. and M.N.J. WALTERS, 1964:
Murine infection with Reo virus; IV. Late chronic
disease and the induction of lymphoma after Reo
virus type 3 infection.
Brit.J.Exp.Path. 47, 237
- 37 KLEINSCHMIDT, W.J., ELLIS, L.F., Van FRANK, R.M.
and E.B. MURPHY, 1968:
Interferon stimulation by a doublestranded RNA of
a mycophage in Statolon preparations.
Nature 220, 167

- 38 KLEINSCHMIDT, W.J., 1970:
In vitro and in vivo studies with Statolon against
Influenza virus.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 173, 547
- 39 KRUEGER, R.F., MAYER, G.D., YOSHIMURA, S. and K.A.
LUDWIG, 1970:
In vivo evaluations of tilorone hydrochloride
against Semliki Forest virus.
Antimicrob. Agents Chemother. 1, 486
- 40 KUNZ, CH. and HOFMANN, H., 1969:
Die Beeinflussung der experimentellen Frühsommer-
Meningo-Encephalitis (FSME)-Virusinfektion durch die
Interferon-induzierende Substanz Poly I:C.
Zbl. Bakt. Orig. 211, 270
- 41 LAMPSON, G.P., TYTELL, A.A., FIELD, A.K., NEMES, M.M.
and HILLEMANN, M.R., 1967:
Inducers of interferon and host resistance.
I. Doublestranded RNA from extracts of penicillium funicu-
losum.
Proc. U.S. Nat. Acad.Sci. 58, 782
- 42 LAMPSON, G.P., TYTELL, A.A., FIELD, A.K., NEMES, M.M.
and HILLEMANN, M.R., 1969:
Influence of polyamines on induction of interferon and
resistance to viruses by synthetic polynucleotides (34182).
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132, 212
- 43 LEONARD, B.J., ECCLESTON, E., JONES, D., 1969:
Toxicity of interferon inducers of the doublestranded
RNA type.
Nature 224, 1023

- 44 LINDH, H.F., LINDSAY, H.L., MAYBERRY, B.R. and
M. FORBES, 1969:
Polyinosinic-cytidilic acid complex (Poly I:C) and
viral infections in mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 132, 83
- 45 LINK, F.:
Methods for testing antiviral agents.
In: Maramorosch, K. and H. Koprowski (eds.):
Methods in Virology, Vol. 4,
Academic Press, New York-London, 1971
- 46 LIPPELT, H. SCHNEIDER, C.C. und F. WINKELMANN, 1967:
Fragen der Pathogenität von Reoviren bei Babymäusen.
ref. in: Zbl.Bakt.Ref. 208, 352
- 47 LÜBKE, A., 1971:
Resistenzänderung von Mäusen gegenüber einer Virus-
infektion (MKS-Virus) durch Vorbehandlung mit Urethan.
Zbl.Bakt.Orig. 216, 441
- 48 MATSUDA, S., KIDA, M. SHIRAFUJI, H., JONEDA, M.
and H. JAOTI, 1971:
Induction of interferon and host resistance in
vivo by doublestranded complexes of copolyribonucleotide
of inosinic and guanylic acids with polyribocytidilic
acid.
Arch.ges.Virusforsch. 34, 105
- 49 MAYER, G.D. and R.F. KRUEGER, 1970:
Tilorone hydrochloride: an orally active antiviral
agent.
Scienc 169, 1213
- 50 MAYR, A., 1967:
Gewinnung hochwertiger Interferone mit Hilfe von
Pocken-virus-Stämmen, die in Zellkulturpassagen ab-
geschwächt wurden.
Zbl.Bakt.Orig. 202, 183

- 51 MAYR, A., 1974:
Vorlesungen in Infektions- und Seuchenlehre.
- 52 MAYR, A., BACHMANN, P.A., BIBRACK, B. und
G. WITTMANN:
Virologische Arbeitsmethoden, Bd. I
G. Fischer Verlag, Stuttgart, 1974
- 53 MAYR, A., 1974:
Interferonisierung: Eine neue Möglichkeit für die
Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 87, 465
- 54 MERIGAN, T.C., 1967:
Interferon by mice and men.
New Engl.J.Med. 276, 913
- 55 MERIGAN, T.C. and M.S. FINKELSTEIN, 1968:
Interferon stimulating and in vivo antiviral effects
of various synthetic polymers.
Virology 35, 363
- 56 MERIGAN, T.C., DECLERQ, E., FINKELSTEIN, M.S.,
CLEVER, L., WALKER, S. and D.J. WADDELL:
Clinical studies employing interferon inducers in
man and animals.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 746
- 57 MIMS, C.A. and F.A. TOSOLINI, 1969:
Pathogenesis of lesions in lymphoid tissue of mice
infected with LCM virus.
Brit.J.Exp.Path. 50, 584
- 58 MITCHELL, M.V. and D.P. GUSTAFSON, 1972:
Protection of newborn mice during neonatal immunological
unresponsiveness from a lethal virus infection by
injection of Statolon.
Acta virol. (Praha) 16, 89

- 59 MUNK, K. and E. G. JUNG, 1970:
Experimentelle Herpes simplex-Virus-Infektion auf
der Haut haarloser Mäuse.
Arch.klin.exp.Derm. 239, 22
- 60 NEHAMA, S. and M. POLLARD, 1971:
Effects of cyclophosphamide on lesions induced by
persistent LCM virus infection in gnotobiotic mice.
Arch.ges.Virusforsch. 34, 278
- 61 NEMES, M.M. and M.R. HILLEMANN, 1962:
Effect of Westphal lipid A on viral activities in mice
and hamsters (27563)
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 110, 500
- 62 NEMES, M.M., TYTELL, A.T., LAMPSON, G.P., FIELD, A.K.
and M.R. HILLEMANN, 1969:
Inducers of interferon and host resistance. VI. Antiviral
efficacy of Poly I:C in animal models (34308).
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 132, 776
- 63 PILCH, D.J.F. and D.W. PLANTEROSE, 1971:
Effects on Friend disease of doublestranded RNA of
fungal origin.
J.Gen.Virol. 10, 155
- 64 PLANTEROSE, D.N., BIRCH, P.J., PILCH, D.J.F. and
T.J. SHARPE, 1970:
Antiviral activity of doublestranded RNA and viruslike
particles from penicillium stoloniferum.
Nature 227, 505
- 65 POPKEN, F.E., 1966:
Antiviral activity of ammoniumpicrate in mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 121, 262
- 66 PUSZTAI, R., GOULD, E.A. and H. SMITH, 1971:
Infection patterns in mice of an avirulent and a virulent
strain of Semliki Forest virus.
Brit.J.Exp.Path. 52, 669

- 67 REED, J. and H. MUENCH., 1938:
A simple method of estimating fifty per cent endpoints.
AmJ.Hyg. 27, 493
- 68 REGELSON, W. and A.E. MUNSON, 1970:
The reticuloendothelial effects of interferon inducers:
polyanionic and nonpolyanionic phylaxis against
microorganisms.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 831
- 69 REMINGTON, J.S. and T.C. MERIGAN, 1969:
Resistance to virus challenge in mice injected
with protozoa or bacteria.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 131, 1184
- 70 RICHMOND, J.J. and L.D. HAMILTON, 1969:
Foot-and-Mouth disease virus inhibition induced in
mice by synthetic doublestranded RNA (polyriboinosinic
and polyribocytidilic acids).
Proc.U.S.Nat.Acad.Sci. 64, 81
- 71 RICHMOND, J.J., 1971:
Mouse resistance against Foot- and-Mouth Disease
virus induces by injections of pyran.
Infec.Immun. 3, 249
- 72 SEAMER, J. and W.J. HANDLOS, 1967:
The course of Langat virus infection in mice.
Brit.J.Exp.Path. 48, 395
- 73 SHIROH Ida and YORIO HINUMA, 1969:
Effect of antilymphocyte serum on Reo virus infection
of mice.
Infec.Immun. 3, 304

- 74 SHOPE, R.E., 1966:
An antiviral substance from penicillium funiculosum.
IV. Inquiry into the mechanisms by which Helenine
exerts its antiviral effect.
J.Exp.Med. 123, 213
- 75 SHULMAN, J.L., 1968:
Effect of 1-amantanamine hydrochloride (Amantadine HCl)
and methyl-1-adamantanethyamine hydrochloride
(Rimantadine HCl) on transmission of Influenza virus
infection in mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 128, 1178
- 76 SIDWELL, R.W., HUFFMAN, J.H., KHARE, G.P., ALLEN, L.B.,
WITKOWSKI, J.T. and R.K. ROBINS, 1972:
Broad spectrum of antiviral activity of Virazole:
1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide.
Science 171, 705
- 77 SINGER, S.H. and M.C. HARDEGREE, 1971:
Induction of interferon by bacterial vaccines and
allergenic extracts.
J.Allergy 47, 332
- 78 SKINNER, H.H., 1951:
Propagation of strains of Foot- and- Mouth Disease virus
in unweaned white mice.
Proc.Roy.Soc.Med. 44, 15
- 79 STANLEY, N.F., LEAK, P.J., WALTERS, M.N.J. and
R.A. JOSKE, 1964:
Murine infection with Reo virus. II. The chronic
disease following Reo virus type 3 infection.
Brit.J.Exp.Path. 45, 142
- 80 STRUCK, H.:
Statistik. In: Struck, H.: Experimentelle Medizin, S.28
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1973

- 81 TOMLINSON, A.H. and F.O. MacCALLUM, 1970:
The effect of iodo-desoxyuridine on Herpes simplex
virus encephalitis in animals and man.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 20
- 82 UNDERWOOD, G.E., 1970:
Clinical evaluation of 4-(2-nitro-1-(p-tolylthio)ethyl)
acetanilide (U-3243) against cutaneous Herpes simplex.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 173, 782
- 83 WALTERS, N.J., 1963:
Murine infection with Reo virus. I. Pathology of the
acute phase.
Brit.J.Exp.Path. 44,
- 84 WHEEDOCK, G.F., 1967:
Effect of Statolon on Friend virus leukemia in mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 124, 855
- 85 WORTHINGTON, M. and S. BARON, 1971:
Late therapy with an interferon stimulator in an
Arbo virus encephalitis in mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 136, 323

Herzlich gedankt sei Herrn Professor Dr. Dr. h. c.
A. MAYR für die Überlassung des Themas und
Frau Dozentin Dr. B. BIBRACK für die gründliche
Beratung und ständige Hilfe bei Durchführung und
Gestaltung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 8.10.1946 wurde ich in Eggenfelden als erstes Kind des praktischen Arztes Dr. Claus von Sommoggy und Erdödy und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Dreier, geboren.

Von 1953- 1957 besuchte ich die Volksschule in Mitterskirchen.

1957 trat ich in das Humanistische Gymnasium Pfarrkirchen ein. Am 19.7.1966 legte ich dort nach neun Schuljahren das Abitur ab.

Von 1966 - 1971 studierte ich Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig -Maximilians Universität in München.

Am 20.10.1971 beendete ich das Staatsexamen.

Am 30.11.1971 erhielt ich die Bestallung als Tierärztin.

Seit dem 1.1.1974 bin ich als Tierärztin im Institut für Experimentelle Chirurgie des Klinikums Rechts der Isar der TU München angestellt.

